

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**



**İYATROJENİK SUBAKROMİYAL BURSİT OLUŞTURULAN
RATLARDA LOKAL STEROİD ENJEKSİYONUN ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ahmet Utku GÜRÜN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sercan AKPINAR

Ankara / 2007

TEŞEKKÜR

Yetkin bir ortopedi ve travmatoloji cerrahı olmamda katkısı olan Başkent Üniversitesine, eğitimimi layığı ile tamamlayabilmem için değerli yardımlarından dolayı baŐta Ortopedi ve Travmatoloji AD baŐkanı Sayın Prof. Dr. İsmail Cengiz Tuncay'a, Prof. Dr. Nevzat Reha Tandoğan'a, tez süresince emeğini esirgemeyen tez danıŐmanım Sayın Doç. Dr. Sercan Akpınar'a, Doç. Dr. Hüseyin Demirörs'e, Doç. Dr. Oğuz Karaeminoğulları'na ve Uzm. Dr. Rahmi Can Akgün'e, Farmakoloji AD baŐkan vekili Sayın Yrd. Doç. Dr. Hale Tufan ve sorumlusu olduğu Başkent Üniversitesi Denev Hayvanları Araştırma Merkezi çalıŐanlarına, istatistiksel analizleriyle katkıları olan uzman istatistikçi Sayın Burcu Gürün'e, çevirisi ve tezimin her aŐamasında özverisiyle yanımda olan öğretim görevlisi Sayın Selen Aktari'ye, resim ve çizimlerdeki yardımlarından dolayı yüksek mühendis Mehmetcan Apaydın'a, tüm araştırma görevlisi arkadaşlarım ve unutamayacağım fedakarlıklarıyla çalıŐmamda desteğini esirgemeyen sevgili aileme teŐekkürlerimi sunarım.

Dr. Ahmet Utku GÜRÜN

ÖZET

İYATROJENİK SUBAKROMİYAL BURSİT OLUŞTURULAN RATLARDA LOKAL ETKİLİ STEROİDİN ETKİSİ

Yapılan deneysel çalışmalarda subakromiyal carrageenan enjeksiyonunun ratlar üzerinde subakromiyal bursit oluşturduğu gösterilmiştir. (1) Bu deneysel çalışmada amaç carrageenan enjeksiyonu ile ratlarda iyatrojenik subakromiyal bursit oluşturmak, oluşan bursiti kontrol grubunda histopatolojik düzeyde gösterdikten sonra uygulanan salin ve steroid enjeksiyonunun inflame doku üzerindeki etkinliğinin ve meydana gelen inflamatuvar değişikliklerin histopatolojik inceleme ile aydınlatılmasıdır.

Çalışmamızda Sprague-Dawley cinsi ratların 30 adedi kullanılmıştır. Ratların herbirine subakromiyal bursit oluşturabilmek amacıyla haftada bir doz olmak üzere toplam 8 kez 10 µl carrageenan verildi. Son enjeksiyonlardan 2'şer hafta sonra 6 adet rat rastgele seçilerek sakrifiye edildi ve iyatrojenik subakromiyal bursit oluşturulduğu histopatolojik olarak kanıtlandı. Kalan ratlar rastgele iki gruba ayrıldı. Birinci grubuna yine haftada bir olmak üzere toplam üç kere 5 µl (3 mg/kg) triamsinolon kristal süspansiyon, diğer gruba ise 5 µl (9 mg/ml) serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı, kalan tek rata hiçbir enjeksiyon yapılmadı. Tüm enjeksiyonlar aynı taraf eklem, aynı boy enjektör ve aynı teknik kullanılarak steril şartlar altında yinelendi. Enjeksiyon öncesi ratlar intraperitoneal ketamin ve xylazine anestezisi aldı, sakrifikasyon öncesi ise doz artırılarak ötenazileri gerçekleştirildi. Kontrol grubunda subakromiyal bursit oluşturulabildiği gözlemlendikten sonra kalan ratlar 2 gruba ayrıldı. İlk gruba fizyolojik salin, ikinci gruba ise lokal kortikosteroid enjeksiyonu uygulandı. Çalışma sonunda 2 grupta sakrifiye edilerek cerrahi diseksiyonla çıkarılan subakromiyal bursa ve supraspinatus tendonu, inflamasyon ve boyanma paternlerini ortaya çıkarmak için Hematoksilen Eozin, VEGF, fibronektin ve TGF-β ile boyanarak mikroskopik olarak incelendi. İstatistiksel analiz sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.0296$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha < p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt

bulunmamıştır. %99 eminlik derecesinde salin veya steroidin tendonda enflamasyon oluşumunda anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün olmadı. Her iki grupta da immünohistokimyasal boyaların kronik inflamasyonu işaret ettiğini gösterdik. Ancak fizyolojik salin ve steroid enjeksiyonu sonrası, inflamatuvar süreç ve diğer boyanma paternleri incelendiğinde; fibronektin, VEGF ve özellikle TGF'nin nonspesifik olduğunu gözlemledik. Sonuç olarak, fizyolojik salin enjekte edilen grup ile steroid enjekte edilen grup arasında inflamasyon ve immünohistokimyasal boyanma paternleri açısından anlamlı bir ilişki kurulamadı.

Anahtar sözcükler: Subakromiyal bursa, supraspinatus tendonu, subakromiyal bursit, lokal steroid enjeksiyonu, inflamasyon

ABSTRACT

THE EFFECT OF LOCAL CORTICOSTEROIDS ON IATROGENIC SUBACROMIAL BURSITIS OF THE RATS

It is shown that subacromial carrageenan injection has formed subacromial bursitis on rats in the experimental researches that have been carried out so far. (1) In this experimental research, the aim is to form iatrogenic subacromial bursitis on the rats via the injection of carrageenan and to show the formed bursitis in the control group on the histopathologic level, and then to explain the effect of the injection of physiologic saline and steroid on inflamed tissue and the inflammatory changes that occur through histopathological analysis.

In this research, 30 Sprague-Dawley rats were used. In order to form subacromial bursitis, these rats were injected with 10 ml carrageenan a week for 8 times in total. Two weeks after the last injections, 6 rats were chosen randomly in order to be sacrificed and it was histopathologically proved that iatrogenic subacromial bursitis had been formed. The rest of the rats were grouped into two at random. The first group was injected with 5 μ l (3 mg/kg) triamcinolone crystal suspension and the second group was injected with 5 μ l (9 mg/ml) physiologic saline injection a week for 3 times. The last one left out of these two groups was not injected at all. All these injections were repeated by using the same technique and the same size injector on the right side shoulder under sterile conditions. The rats were anesthetized by ketamine and xylazine intraperitoneally before the injections and they were sacrificed by increasing the dose of the anesthetics for the dissection. After observing the formation of subacromial bursitis in the control group, the rest of the rats were divided into two. The first group was injected physiologic saline whereas the second one was injected local cortikosteroid. At the end of the research, the subacromial bursa and the supraspinatus tendon, which had been dissected after the sacrifice of the two groups, were stained by Hematoxyline Eozin, VEGF, fibronectin ve TGF- β and microscopically examined in order to obtain

staining patterns and determine inflammation. The result of the statistical analysis is $p = 0.0296$. And when this value was compared with $\alpha = 0.01$, it was found out that since $\alpha < p$, there had not been any evidence which would refuse null hypothesis. It was not 99% possible to claim that physiologic saline and steroid were having different effects on the inflammation of tendon and bursa. In both groups, the immunohistochemical stainings pointed chronic inflammation. However when we examine the inflammatory process and the immunohistochemical stainings after physiologic saline and steroid injection, it was observed that fibronectin, VEGF, particularly TGF were nonspecific. As a result it was found out that there were no differences between the saline and the steroid groups when the inflammation and the immunohistochemical staining patterns were considered.

Keywords: Subacromial bursa, supraspinatus tendon, subacromial bursitis, local steroid injection, inflammation

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT AND KEY WORDS)	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46

KISALTMALAR DİZİNİ

- TNF** : Tümör nekroz faktörü
- IL** : İnterlökin
- MMP** : Metalloproteinaz
- COX** : Siklooksijenaz
- SDF** : Stromal hücreden türemiş faktör
- CXCL12** : Kemokin (C-X-C motif) ligand 12
- VEGF** : Vasküler endoteliyal büyüme faktörü
- TGF** : Transforme edici büyüme faktörü
- PG** : Prostaglandin
- PGI2** : Prostatiklin
- HE** : Hematoksilen eozin

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1 : Sprague Dawley	3
Resim 2 : Ratın sağ skapulotorasik eklemi sınır olacak şekilde ekstremitesinin “en bloc” eksizyonu	15
Resim 3 : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri. (içten görünüm)	16
Resim 4 : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri. (lateral görünüm)	16
Resim 5 : Skapulotorasik eklem. (torakal yüzü)	17
Resim 6 : %10'luk formalin tespit solüsyonunda 24 ve 48 saat arasında tespit	17
Resim 7 : Normal tendon ×20 optik büyütme, HE	18
Resim 8 : İnflamasyon,×20 optik büyütme, HE inflamasyonu gösteren tendon	19
Resim 9 : İnflamasyon, ×20 optik büyütme, HE inflamasyonu gösteren tendon	19
Resim 10 : Tendon çevresi inflamasyon × 20 optik büyütme, HE	20
Resim 11 : İnflamasyon, makrofaj ağırlıklı, × 20 optik büyütme, HE	20
Resim 12 : VEGF × 10 büyütme	23
Resim 13 : VEGF × 40 büyütme	24
Resim 14 : Fibronektin × 20 optik büyütme	24
Resim 15 : Fibronektin × 20 optik büyütme	25
Resim 16 : Salin yapılan VEGF (-) preparat	27
Resim 17 : Salin yapılmış VEGF (+) preparat	27
Resim 18 : Salin yapılmış fibronektin (+) preparat	28
Resim 19 : Tendonda fragmantasyon	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 :	Carrageenan Yosunu	4
Şekil 2 :	Ratın sağ skapulotorasik eklemi sınır olacak şekilde ekstremitesinin “en bloc” eksizyonu	6
Şekil 3 :	Triamsinolon	8
Şekil 4 :	Fosfolipidler fosfolipazA2 tarafından araşidonik aside çevrilir, bu basamak steroidler tarafından bloke edilir	9

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 :	Bursa için steroid/fibronektin kontrollü deney çalışması frekans prosedürü	30
Tablo 2 :	Örnekleme genişliği, 23	30
Tablo 3 :	Bursa için steroid/VEGF kontrollü deney çalışması frekans prosedürü	31
Tablo 4 :	Örnekleme genişliği, 23	31
Tablo 5 :	Tendon için steroid/fibronektin kontrollü deney çalışması frekans prosedürü	32
Tablo 6 :	Örnekleme genişliği, 23	32
Tablo 7 :	Tendon için steroid/VEGF kontrollü deney çalışması frekans prosedürü	33
Tablo 8 :	Örnekleme genişliği, 23	33
Tablo 9 :	Tendon için steroid/enflamasyon kontrollü deney çalışması frekans prosedürü	34
Tablo 10 :	Örnekleme genişliği, 23	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Steroidler tetrasiklik yapıda olup, hormonlar, vitaminler, ilaçlar ve vücut içerikleri gibi çok geniş bir aileyi içeren moleküllerin genel adıdır. Steroidler enflamasyonun azaltılmasında dramatik etkiye sahiptir. Farklı plazma yarı ömürleri ve çözünürlükleri nedeniyle farklı preparatlar şeklinde bulunurlar. Etki dozları ve etki süreleri farklıdır. Lokal kullanımda plazma yarılanma zamanı farklı olduğu için suda çözünenler tercih edilir. Steroidlerin lokal kullanımı 1950'de popüler olup ilk kez Hollander tarafından romatoid artritte kullanılmıştır. (2) Bursit, impingement sendromu, sinir kompresyon sendromları, tendinitler, artritler, stenozan tenosinovitler ve ganglionlar gibi bir çok patolojide başarıyla kullanılmaktadır.

Lokal steroid uygulamaları ve komplikasyonları ile ilgili birçok klinik ve deneysel çalışma mevcuttur. Triamsinolonun ratların subakromiyal boşluğuna enjeksiyonu sonrası rotator manşet hasarına yol açtığı gösterilmiştir. (3) Lokal steroid uygulamaları sonrası spontan aşıl, patellar tendon, peroneal tendon rüptürleri ve benzer histopatolojik değişiklikler rapor edilmiştir. (4, 5, 6, 7) Lokal steroid enjeksiyonu tendon, bursa ve eklemlerin inflamatuvar hastalıklarında etkili bir tedavi yöntemidir. Ancak granülasyon dokusu oluşumunu engellediği, ligamentlerin biyomekanik özelliklerini değiştirdiği de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. (8)

Lokal steroid enjeksiyonu uygulamalarında çok uzun dönem ve yüksek dozda kullanılmadığı sürece sistemik etkileri görülmemektedir. Lokal uygulamaların dokular üzerindeki etkinliği en iyi histopatolojik değerlendirme ile anlaşılır. Steroidlerin sistemik kullanımı ile inflamasyonu giderme mekanizması, süre ve doz bağımlı komplikasyonları bilinmektedir. Birçok çalışmada lokal steroid uygulamasının etkinliği

linik olarak rotator manşet tendiniti ve donmuş omuzda gösterilmiştir. (9) Ancak inflamasyonu geçirme mekanizması ve beraberinde oluşabilecek komplikasyonlar tam olarak açıklanamamıştır. Subakromiyal bursit için yapılan lokal steroid enjeksiyonunda yakın komşuluğu nedeniyle rotator manşet ve az da olsa eklem kıkırdağı da etkilenebilmektedir. (10, 11)

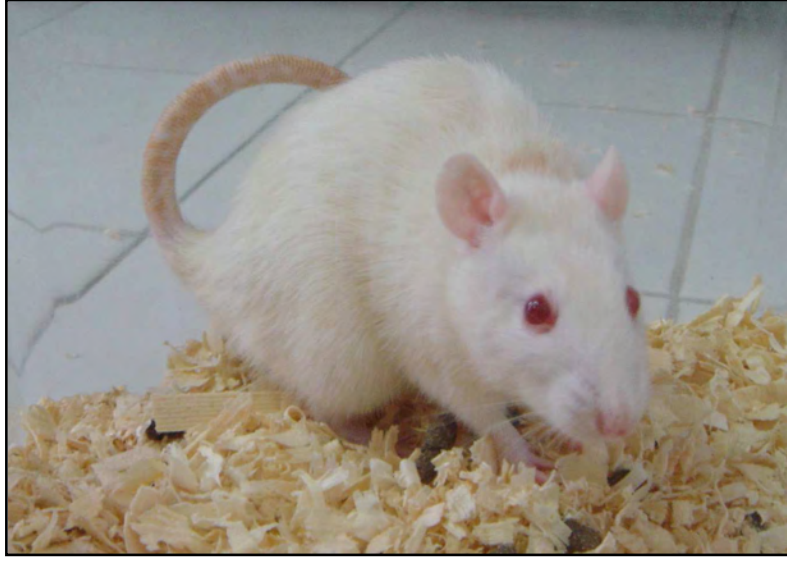
Kliniğimizde yapılan çalışmalarda da lokal steroid uygulamaları ve komplikasyonları ile ilgili değerli bilgiler elde edilmiştir. Metilprednizolon ve betametazonun tekrarlayan lokal enjeksiyonları sonrası rotator manşet üzerinde major tendon hasarına yol açtığı immünohistokimyasal ve histopatolojik düzeyde inceleme yapılarak gösterilmiştir. (12)

Bu tezin konusu olan çalışmada ise, lokal steroid uygulamalarının inflamasyon üzerindeki etkinliği araştırıldı. Ratlar üzerinde oluşturulan deneysel model ile iyatrojenik subakromiyal bursit oluşturulduktan sonra lokal steroid enjeksiyonunun, doz ve süre bağımlı etkili immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NEDEN SPRAGUE DAWLEY®

Muridae ailesinin, rattus cinsinin, R.norvegicus türünden olan Sprague Dawley, subakromiyal boşluğu, supraspinatus kası, tendonu ve ilişkili sinirlerinin insan anatomisi ile olan benzerliği nedeniyle bu ratın omuzu, deneysel çalışmamız için en ideal modeldir. (13, 14)



Resim 1: Sprague Dawley (Sprague Dawley® is the registered trademark of Harlan Industries)

Erişkin bir dişi rat 250-300 gr. , erkek rat 450-520 gr. arasında değişmektedir. Ortalama yaşam süresi 2,5-3 yıldır. İyi gelişmiş akromiyon, belirgin spina skapula, subakromiyal bursa, akromiyoklavikuler eklem, klavikula, humerus, supraspinatus ve infraspınatus tendonları, biceps tendonu ve diğer bölümleri ile zorlanmadan ayırt edilebilen anatomik yapılara sahiptir. Deltoid kasın humeral yapışma noktası insanlara göre daha belirgindir.

2.2. CARRAGEENAN ve BURSİT

Latince tam adı “Chondrus Crispus”, zaman zaman “İrlanda Yosunu” ya da “Carrageenan Yosunu” olarak adlandırılan, Atlantik Okyanusu’nun kuzey kıyılarında yetişen bir çeşit kırmızı algdir. Çalışmalarımızda kullanılan carrageenan ise Chondrus Crispus’un sıcak su ekstresinden elde edilen bir polisakkarittir. (15)



Şekil 1: Carrageenan Yosunu

Carrageenan yıllardır inflamasyonun tendon ve eklemlerdeki etkisini incelemek için kullanılmaktadır. (16, 17, 18, 19) İlk kez subakromiyal patolojiler için 2001 ve 2002 yıllarında kullanılmaya başlandı. (1, 12) Carrageenanın akut yada kronik inflamasyonu tetiklemesinin yanı sıra bazı otörler makrofajlarca fagosite edilen irritanın granülamatöz inflamasyon yaptığını da bildirmişlerdir. (18, 19, 20) Mekanizması henüz tam anlaşılmamış süreç başladıktan sonra gelişen mekanik stres, inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri inflamasyonu artırıp daha da kötüleştirebilmektedir. Sakai ve

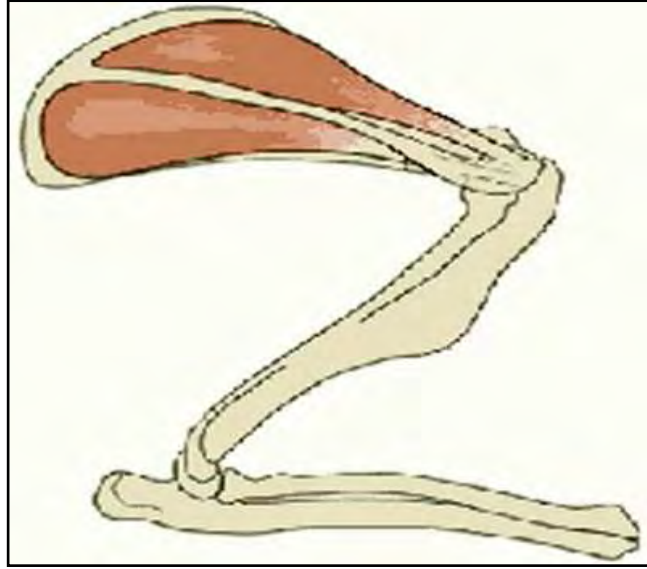
arkadaşlarının yaptığı çalışmada da bursal dokunun hipertrofisi sonrası rotator manşet yırtıklı hastaların artan inflamatuvar sitokin-büyüme faktörleri, ağrı ve fibrozisi arttırdığı gösterilmiştir. Gelişen hipertrofi ve fibrozis ise bursanın kayma fonksiyonunu bozarak omuz eklemi sertliği ve subakromiyal sıkışmanın daha da artmasına neden olmaktadır. (21)

2.3. SUBAKROMİYAL BURSA YAPISI

Subakromiyal bursit hakkında birkaç vakayı temel alarak genel açıklamalar yapan ve subakromiyal bursa ile ilgili gelişmeleri gözlemleyen ilk kişi 1867 yılında Jarjavay'di. (22) Görüşleri 1868'de Heineke ve Vogt tarafından geliştirildi. (23) Codman, Amerika'da, subakromiyal bursit kliniğinde supraspinatus değişimlerinin oynadığı role dikkat çekerek bu soruna önemli katkıda bulunmuştur. Subakromiyal bursa vücuttaki en geniş bursa olup glenohumeral eklem kapasitesinin yarısı kadar, yaklaşık 15 ml. salini tek başına alabilmektedir. Aynı zamanda sıkışma noktasında yer almasıyla da özel ilgi çekmektedir. Kesenin merkezi korakoakromiyal ligamentin üst ve orta 1/3'ündedir. Subakromiyal bursa aslında, iki membranöz yüzeyi ayıran ince film şeklindeki lubrikan sıvının oluşturduğu potansiyel bir boşluktur. Codman'ın 500'ün üzerinde subakromiyal bursayı diseke ederek yaptığı çalışma öncesinde anatomistler "subakromiyal, subdeltoid ve subkorakoid olmak üzere üç ayrı bursa vardır." görüşünde birleşiyordu. Codman bu çalışmasıyla, suprapatellar poşun plikayla bölünmesindeki gibi, subakromiyal bursanın da zaman zaman plika ile bölümlere ayrılabilindiğini, buna rağmen bu üç bursanın aslında tek bir bursa olduğunu söylemiştir. (24)

Strizak ve arkadaşları yaptığı 15 diseksiyonda, üç komponenti; subakromiyal, subdeltoid ve subkorakoid olarak ayrı ayrı saptamış, yalnız bir diseksiyonda subakromiyal ve subdeltoid kesenin bir septum ile ayrıldığını, üç diseksiyonda ise subkorakoid bursanın içeriye doğru uzandığını ve subskapularis ile korakoid arasında yer aldığını ancak glenohumeral ekleme bağlantısız olduğunu söylemiştir. Bursanın duvarları doğal yollardan olmayarak ancak bursa şişirildiğinde tarif edilebilir. Bu şekilde

iki düz yüzey olmaktan çok küreye benzer. Boşluk duvarlarının pozisyonu değiştikçe, çapı azalır. Bu nedenle duvarlara Strizak “kesenin yansımaları” demeyi önermiştir. Lateral yansıması deltoid kasın altına, posterior yansıması akromiyonun ön-orta 1/3 birleşim yerine, anterior yansıması korakoakromiyal, subkorakoid uzantısı varsa korakoidin altına, medial yansıması akromiyoklavikuler eklem altına denk gelmektedir. (25) Bazen subdeltoid bursa olarak da adlandırılabilen subakromiyal bursa yukarıdan akromiyon, korakoakromiyal ligament ve deltoid, aşağıdan ise supraspinatus tendonu ve glenohumeral eklem kapsülü arasında yer almaktadır. Böylelikle supraspinatus tendonunun korakoakromiyal ark ve deltoid kas altındaki, tuberkulum majus ve glenohumeral eklem üzerindeki hareketleri kolaylaştırır. Normalde glenohumeral eklem kavitesi ile ilişkide değildir.



Şekil 2: Sprague Dawley’in akromiyal arkından supraspinatus ve infraspinatus tendonlarının geçişi

Subakromiyal bursa dokusu, fibroblast benzeri sinoviyosit ve stromal hücre içeren kendi mikroçevresine sahiptir. Doku, benzer histolojik özellik ve hücre tipi içeren romatoid artirit sinoviyumuna benzer. Bir çalışmada, polimiyaljik romatoid artiritli hastaların %70’inin subakromiyal-subdeltoid bursasında, sinovit ve/veya effüzyon saptanmıştır. (26)

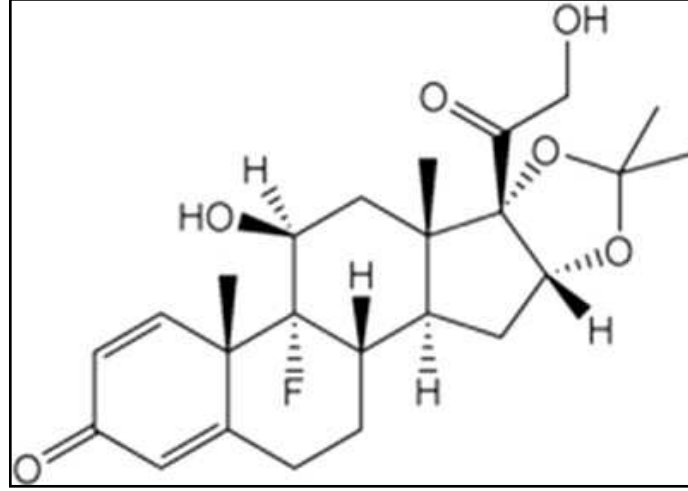
Subakromiyal bursa ek olarak uygun omuz hareketlerini düzenlemek için var olduğu öngörülen nosiseptif uyarı ve proprioze için nöral elementler içerir. (27) Soifer ve arkadaşları yaptığı çalışmada, immunohistokimyaal boyalar ve elektron mikroskopisi aracılığı ile subakromiyal boşluktaki komponentler; subakromiyal bursa, rotator manşet tendonları, biceps tendonu, tendon kılıfı ve transvers humeral ligament kullanılarak bu yumuşak dokulardaki nöral elementler ve miktarları saptamıştır. Sonuçta subakromiyal bursada, diğer dokulara oranla çok daha zengin, serbest sinir fibrilleri bulmuşlardır. Bu fibriller aracılığı ile iletilen nosiseptif bilgilerin sıkışma sendromunun neden olduğu ağrıdan sorumlu olabileceği önerilmiştir. (28)

Rotator manşet yırtığı olan hastalarda da subakromiyal bursadaki inflamatuvar değişiklikler ağrının ana nedenlerinden biridir. Patoloji preparatlarında da hematoksilen eozin ile boyanan villus benzeri oluşumlar, fibroblastların hiperplazisi ve kapiller hiperplazisi rahatlıkla seçilebilmektedir. (21) Benzer hasta grubunda yapılan bir çalışmada mikrodizilim analizi ile bazı sitokin genleri, (TNF, IL-1alfa, IL-1beta, and IL-6), metalloproteaz (MMP-1 and MMP-9) ve siklooksijenaz (COX-1 and COX-2) gen ekspresyonunun normal bursal dokuya oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (29)

2.4. LOKAL STEROİDİN ETKİSİ

Steroid, birbiriyle kaynaşmış dört halkadan oluşmuş karbon iskeletli bir lipittir. Steroidler asetil KoA biyosentez yolundan oluşurlar. Farklı steroidler bu halkalara bağlı olan fonksiyonel gruplar bakımından birbirlerinden ayrılırlar. Bitkiler, hayvanlar ve mantarlarda yüzlerce çeşit steroid tanımlanmıştır.

Septik olmayan, lokal eklem inflamasyonunda yaklaşık yarım yüzyıldır mikrokristal kortikosteroidler basit, palyatif, göreceli ve güvenilir terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. (2) 1970 yılında Hollander depo kortikosteroidlerle olan yirmi yıllık deneyimini yayınlamıştır. (3)

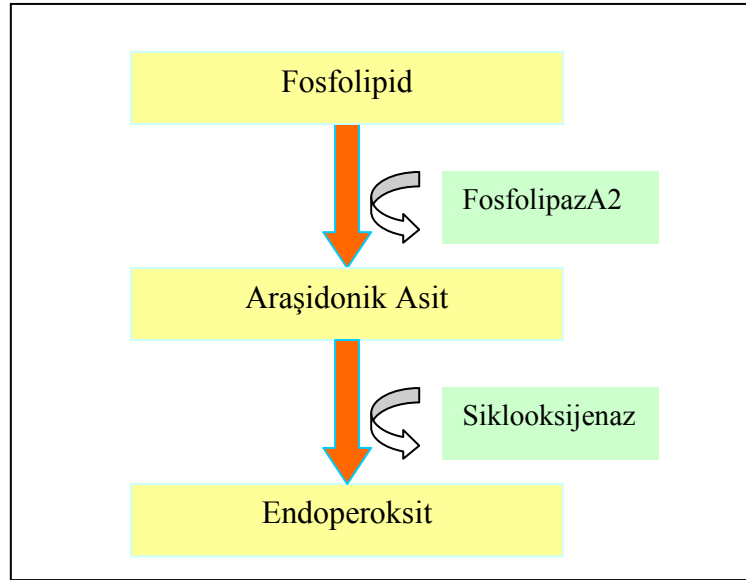


Şekil 3: Triamsinolon

Triamsinolon heksasetonidin lokal enjeksiyonu sonrası yan etkileriyle ilgili çeşitli yayınlar da çıkmıştır. (30) Sinoviyal sıvıda triamsinolon asetat ve prednizolon enjeksiyonu sonrası artmış lökosit sayımı ile enjeksiyonun 24'üncü saatinden bir hafta sonrasına kadar sinoviyal sıvıda intrasellüler olarak tespit edilen kristaller polarize ışık ve elektron mikroskobunda gösterilmiştir. (31) Yine tekrarlayan triamsinolon heksasetonid enjeksiyonlarına bağlı femur başı, distal femur ve proksimal tibia osteonekrozları, (32, 33) çocuklarda bölgesel epifiziyel osteonekrozlar bildirilmiştir. (34) Sistemik yada lokal kullanımı takiben, spontan tendon rüptürü, bağ dokusu atrofisi, azalan tendon biyomekanik özellikleri bildiren yayınlarda vardır. (35, 6, 36) Konuyla ilgili hayvan çalışmaları aşıl tendonu, patellar tendon, dizde medial kollateral bağ ile yapılp yine tendon atrofisi, kollajen demetleri ayrışması, azalan biyomekanik özellikler, enfeksiyon ve gecikmiş iyileşme üzerine yoğunlaşmıştır. (37, 38, 39, 40) Aksine, peritendinöz kullanılan kortikosteroidlerin tendon üzerinde kesin bir yan etkisi olmadığı yapılan birçok klinik ve hayvan çalışmasında da gösterilmiştir. (41, 42, 36, 43)

Kortikosteroid injeksiyonun amacı inflamasyonu azaltmaktır. Bu işlemi inflamatuvar yolda vital öncü olan fosfolipaz A2'nin araşidonik aside dönüşümünü inhibe ederek gerçekleştirir. Lokal dokulara inflamatuvar hücrelerin akışını engelleyen, potent inflamasyon inhibitörüdür. Aynı zamanda sinoviyal hücreler ve inflamatuvar hücrelerde kemokin (**kemotaktik sitokin**) ekspresyonunu bloke etme yeteneğine sahiptir.

Kim ve arkadaşları sık kullanılan potent steroidlerden dekzametazonun bursal hücrelerdeki SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) ekspresyonunu engellediğini, steroidlerin subakromiyal bursit tedavisinde kullanılabileceğinin biyolojik temelini gösterdiklerini, gelecekte de subakromiyal bursada spesifik moleküllerin hedeflenerek yan etkilerin minimuma indirebileceği, tedavi stratejileri geliştirilebileceğini söylemiştir. (44) Yapılan çalışmalar subakromiyal bursa inflamasyonunun sıkışma patogenezinde önemli bir komponent olduğunu ispatlamaktadır. Blaine ve arkadaşları SDF-1 ve CXCL12 (chemokine (C-X-C motif) ligand 12) gibi inflamatuvar sitokinlerin subakromiyal bursitte arttığını göstermiştir. (29)



Şekil 4 : Fosfolipidler fosfolipazA2 tarafından araşidonik aside çevrilir, bu basamak steroidler tarafından bloke edilir .

2.5. İNFLAMATUVAR SİTOKİNLER

Subakromiyal bursada sinoviti takiben gelişen proliferasyon, rotator manşette lubrikasyon kaybına neden olmaktadır. Akromiyon-korakoakromiyal ligament alt yüzleri ve supraspinatus insersiyosu arası oluşan sıkışma ağrılı omuz hareketi yaratır. (45, 21) Patolojik mekanizma net olmamasına rağmen, ağrı nedeninin subakromiyal sıkışma olduğu düşünülmektedir. Sinoviyum içerisinde proliferasyon ve anjiyogenez

subakromiyal boşluğu daraltarak ağrıyı arttırmaktadır. Gelişen kronik inflamatuvar süreçte anjiyogenez önemli role sahiptir. (46, 47, 48, 49) İnflamasyonlu yeni dokuda anjiyogenez ile gelişen damarlar, inflamatuvar hücreleri, onlara gereken besin ve oksijeni proliferen dokuya taşımaktadır (50, 47) Artmış olan endotelial yüzey; sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve diğer inflamatuvar uyarıların üretimi için aşırı bir kapasite yaratır. Rotator manşet yırtıklarında da, subakromiyal bölgedeki çeşitli sitokinlerin kompleks reaksiyonu, inflamatuvar cevaba aracılık eder. Asidik fibroblast büyüme faktörü, bazik fibroblast büyüme faktörü, ve trombosit kaynaklı endotelial hücre büyüme faktörü gibi bazı anjiyogenik faktörler endotel hücre büyümesini stimüle eder. Bu moleküllerden özellikle vasküler endotelial büyüme faktörü, (VEGF) yoğun anjiyogenik ve mitojenik özelliği ile vasküler endotel hedef alır. (51, 52, 53) Bu sitokinler sinoviyada stromal kapillerde uyarıcı olabilir, ancak hala sinoviyal dokudaki anjiyogenez regülasyonunun etki mekanizmaları bilinmemektedir.

Ekstraselüler matriksin en önemli bileşenlerinden birisi olan adheziv glikoproteinler bir taraftan büyük çoğunluğu hücre dışı matriks komponentlerini tutan diğer taraftan spesifik integral hücre membran proteinlerini bağlayan farklı iki yapısal protein niteliği taşımaktadır. Böylece ekstraselüler matriks komponentlerini birinden diğerine ve hücrelere bağlamaktadır.

Bu gruptan fibronektin, yüksek molekül ağırlıklı (400.000 kd) , %5 karbonhidrat içeren, birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlı iki zincirden oluşan bir glikoproteindir. Hücre yüzeyleri, bazal membranlar, periselüler matriksler ile ilişkili fibronektin; fibroblastlar, monositler, endotel hücreleri ve diğer hücreler tarafından oluşturulur. Fibronektin özel yollarla ve integrin reseptörleri aracılığı ile diğer çok sayıda ekstraselüler matriks proteinlerini (kollajen, fibrin, heparin, proteoglikanlar) bağlar. Bu reseptörler transmembran glikoproteinleridir ve hücre içi özel yollarla hücre iskeleti elemanlarıyla etkileşerek hücre hareketi veya farklılaşmasını uyarır. Fibronektin doğrudan hücre tutulması, yayılması ve göçüne etkir. Ek olarak fibroblast büyüme faktörleri gibi büyüme faktörlerinin proliferatif etkisine karşı kapiller endotel hücreleri gibi bazı hücrelerin duyarlılığının oluşmasında yardımcı olur. Bu, fibronektinin hücre içi kimyasal uyarı yollarını aktive etmesi ve hücre biçimini değiştirmesine

bağlanmaktadır. Bu nedenle fibronektin çoğalan endotel hücreleri tarafından aktif olarak üretilmektedir. (54) Aynı genden üretilen bazı izoformları vardır. Aynı zamanda fibrinin fibroblastlara adhezyonu ve fibroblast migrasyonu devamlılığını sağlayarak doku iyileşmesinde önemli görevler alır. (55, 56, 57) Artmış kollajen formasyonunu indükleme ve granülasyon dokusu oluşturma üzerine fibrinin uyarıcı etkisi vardır. (58) Normal iyileşme sürecinde ise fibronektin nihai olarak kaybolur. (59, 60, 61) Ancak granülatöz doku reaksiyonu devam ederse fibronektin yüksek seviyelerde bulunmaya devam eder. (56) Kronik aşıl tendiniti olan hastaların paratenonlarında da hem fibrinojen hem fibronektin yüksek bulunmuştur. Kısaca fibronektin ve fibrinojen tendon hasarlanması ve olgunlaşmamış skar dokusu için belirleyici bir faktör olabilir. (62) Tillander'in carrageenan ile yapmış olduğu çalışmada, iyatrojenik oluşturulmuş subakromiyal bursit sonrası elde edilen tendon spesimenlerinde, artmış fibronektin boyanması saptanmıştır. (1) Yapılan hayvan ve insan çalışmalarında da hasarlı dokuların fibronektin seviyesi kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. (57, 63, 61)

Transforme edici büyüme faktörü (TGF), transforme edici büyüme faktörü alfa ve transforme edici büyüme faktörü beta adlı iki alt polipeptid grubuna ayrılır. TGF-alfa tümörlerde artar. Makrofaj, nöral hücreler ve keratinositlerce salgılanır ve epiteliyal büyümeyi indükler. Doku rejenerasyonu, hücre diferansiyasyonu, embriyolojik gelişme ve immün sistem regülasyonunda hayati rol oynar. TGF-beta; beta-1, beta-2, beta-3 izoformları olan biyolojik bir proteindir. Geniş bir protein prekürsörü olarak salgılanır. Sentezlendiğinde inaktif formda olan inaktif TGF-beta, latent transforme edici büyüme faktörü beta kompleksi oluşturmak için latent TGF-beta bağlanma proteinine bağlı olarak bulunur. Kompleks halinde salgılanır ve kovalent bağ ile ekstraselüler matrikse bağlanır. Fonksiyonel olması için sekestre formun aktivasyonu gereklidir. Pratik olarak epiteliyal, endoteliyal, hematopoetik, nöral ve bağ dokusu gibi vücuttaki tüm hücrelerden üretilebilir. Çoğunlukla tartışmalı etkiler gösterir. Birçok epiteliyal hücre tipi için kültürlerde büyüme inhibitörüdür ve hepatektomide hücre büyümesini yavaşlatır. Aynı şekilde fibroblast ve düz kas proliferasyonuna etkisi de çeşitlidir ve düşük konsantrasyonlarda platelet kökenli büyüme faktörü yapım ve sekresyonunu uyarır ve böylece indirekt mitojenik etki gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda ise platelet kökenli büyüme faktörü reseptör ekspresyonunu inhibe etme özelliği ile büyümeyi

engeller. TGF-beta, kollajen parçalanmasını inhibe ederken tüm etkilerini, fibrogenesis üzerine yoğunlaştırıp, fibroblast kemotaksisi ile hücrelerden kollajen ve fibronektin yapımını attırır. Plateletler, endotelial hücreler, T hücreleri ve makrofajlar gibi farklı hücre tipleri tarafından uyarılır. TGF-beta hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. (54) Reseptörler ise hücre içi sinyal yollarını aktive eder. TGF-beta'nın kollajen ve proteoglikan sentezini artırdığı ve matriks yıkımını ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. (64) Yaralanmaya hücre yanıtının yönlendirilmesinde, fibrogenesis devam ettirmede ve skar formasyonu ile fibrozis ilerlemesinde major role sahiptir. (65, 66, 67, 68, 69) Bu nedenle karaciğer fibrozisi ve ciltte skar formasyonu gibi hastalıkların tedavisinde, transforme edici büyüme faktörü beta biyolojik etkisi bloke edilmeye çalışılarak kullanılmıştır. (65, 66, 67) Tendon hücreleri ile kültüre edildiğinde ise kollajen I ve III üretimini belirgin biçimde arttırmış, (70) tendon iyileşmesinin erken döneminde mRNA yüksek bulunmuş, (71) yapılan bir tavşan çalışmasında da, tamir edilen tendonla dışarıdan verilen TGF-beta'nın tip I ve tip III kollajen üretimini ve tendonun mekanik gücünü artırdığı saptanmıştır. (72)

Erken evrelerde proinflamatuvar hareketlerine rağmen aktive makrofaj ve immungloblin sentezini bloke eder. Eğer miktarı supleme edilip artırılırsa inflamasyonu baskılar. (73) İnflamasyondaki etkisinin yanı sıra transforme edici büyüme faktörü, proteoglikan boşalmasını baskılayarak proteoglikan birikimini engeller ve yumuşak doku iyileşmesinde de rol alır. (74)

Asidik fibroblast büyüme faktörü, bazik fibroblast büyüme faktörü ve platelet kökenli endotelial büyüme faktörü gibi çeşitli faktörler endotelial hücre çoğalmasını stimüle eder. Bu moleküllerden VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) özellikle vasküler endotel hücrelerini hedef alır. Yoğun mitojenik ve anjiogeniktir. (49) Vasküler endotelial büyüme faktörünün beş farklı izoformu tanımlanmıştır; VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189, VEGF206. 206, 189, 165, 145 ve 121 polipeptitten oluşan aminoasitler, aynı genin alternatif ayrılmasıyla oluşan, farklı biyolojik aktivitelere sahip izoformlarıdır. (75, 76) Bu sitokinler sinoviyumdaki stromal kan damarlarında da uyarıcı role sahip olabilirler. Ancak bu sitokinlerin sinovial dokuda yeni damar oluşumunu regülasyon mekanizması tam olarak anlaşılammıştır.

Subakromiyal bursada primer ya da sekonder nedenlerle oluşan sinoviyal proliferasyon, doğal lubrikan mekanizmayı etkileyerek subakromiyal sıkışmayı daha da arttırabilir, (45) bu ise önceden hasarlanmış kollajenin rezorpsiyonuyla devam eden hiperemik yanıtı indükler. (77) Aşırı damarlanma artışı veya yeni damarlanma artışı sıkışmaya ikincil gelişen semptomatik rotator manşet yırtıklarıyla da ilişkilendirilmiştir. (78) Kronik inflamatuvar süreçlerde anjiyogenez aktif sinoviyal proliferasyonu uyarır. (49) İmmünohistokimyasal analizler, VEGF'nin sinoviyal doku ve vasküler endotelial hücrelerde daha bariz, stromal fibroblastlarda da daha az olmak üzere yayılım gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Aynı zamanda kapilleri çevreleyen fibroblastlarda ve romatoid artritli hastaların vasküler düz kas hücrelerinde de rapor edilmiştir. (49) Sıkışma sendromlu hastalarda, inflamasyonda vasküleriteyi analiz etmek için yapılan bir çalışmada, immunohistokimyasal yöntemlerle anti-CD34 antibody kullanılarak subakromiyal bursal doku incelenmiş; kapiller sayısı, yoğunluğu ve VEGF mRNA ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon rapor edilmiştir. (79) Vasküler endotelial hücrelerden ve sinoviyal çeper hücrelerinden üretilen salgılanabilen izoformlardan VEGF165 ve VEGF121 sinoviyal proliferasyon ve neovaskülerizasyonu geliştiren faktörlerdendir. (80) VEGF'ü, neovaskülerizasyonda ve vasküler geçirgenlik artışı regülasyonunda önemli bir glikoproteindir. Bursal doku boyandığında histopatolojik olarak sinovial çeperde ve vasküler endotelial çeperde yer alırlar.

Vasküler endotelial hücreler üzerinde VEGF165 ve VEGF189'un doz bağımlı mitojenik etkisi vardır. Rotator manşet hastalığı olan hastaların bursal dokularında yapılan bir çalışmada VEGF131 ve/veya VEGF165 ekspresyonuna rastlanmış ancak VEGF189'a rastlanmamıştır. İzoform 131 ve 165 kanserde yüksek oranda eksprese olan geniş izoformdan (VEGF189) farklıdır. (81, 82, 83, 84, 85, 86) Bunlarla birlikte romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvılarında da VEGF165 saptanabilmiştir. (48) Özellikle çözünebilir formlar olan VEGF121 ve VEGF165, anjiogenez ve sinoviyal proliferasyonda major rol oynar. (79)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

DA05/36 no'lu ve ‘‘ Subakromiyal bursit oluşturulan ratlarda lokal steroidin etkisi ’’ başlıklı araştırma projemiz 21 Aralık 2005 tarihinde Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma kurulunca bilimsel ve etik açıdan uygun görülüp onaylanmıştır. Deneyler Başkent Üniversitesi deney hayvanları üretim ve araştırma merkezi araştırma ünitesi ve ameliyathanelerinde yapılmıştır.

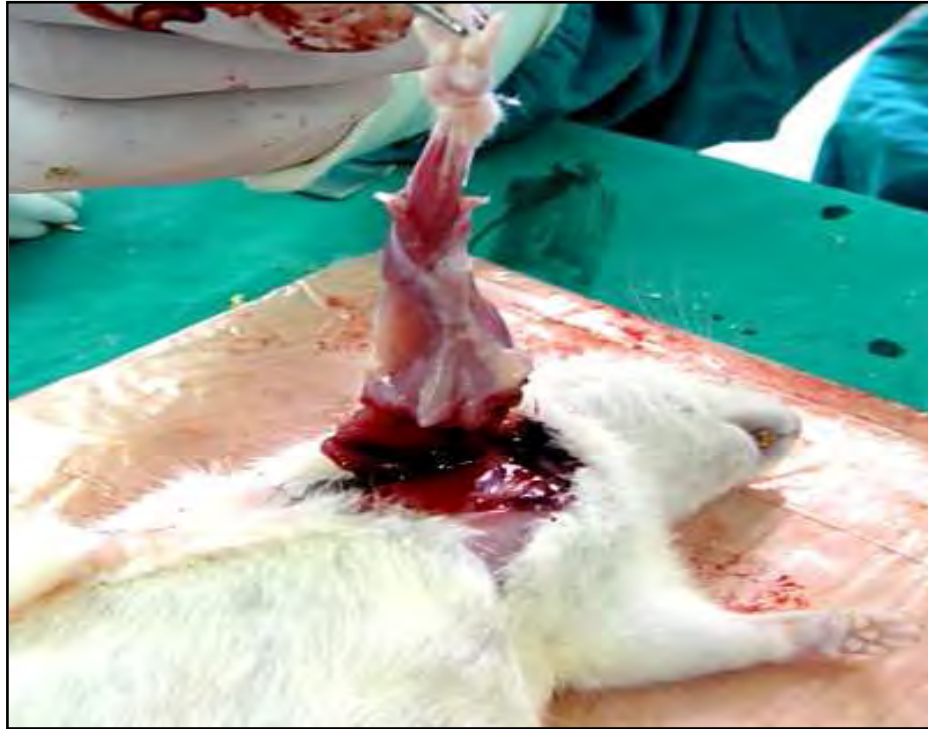
Çalışmamızda 30 adet Sprague-Dawley cinsi dişi rat kullanıldı. Kullanılan ratlar 186 gram ile 280 gram arasında değişmekteydi. 29 adet ratın 6'sının sağ omuzu subakromiyal bursit oluşturulmak üzere enjeksiyon için kullanıldı. Enjeksiyonlarda Microlance® 3,27 G 3/4 0,4x19 no:20 enjektör kullanıldı. Her hayvan kafeste, su ve besin serbestisine sahip olarak yaşatıldı. Tüm kafesler polikarbon yapıdaydı. Ortam nemi %50 ± 10, ortam sıcaklığı ise standart olarak 20 ± 2 C ° değerlerinde sabitti. Kafeslerin bulunduğu odalar 12 saatte bir gece-gündüz döngüsü içerisinde, sabah sekiz akşam sekiz arasında aydınlatılıyordu. Deney süresince ratlara Purina® standart rat yemi verildi. Tüm işlemler, steril şartlar altında Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nin ameliyathanelerinde gerçekleştirildi.

İşlemler öncesinde anestezi için 50 mg./kg. Ketamin Hidroklorid (Ketalor®, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 7 mg./kg. Xylazine® (Rhompun, Bayer, İstanbul) intraperitoneal verilmek üzere hazırlandı. Anestezinin ardından her rat elektronik tartı ile otomatik olarak 20 kez tartıldı, ortalaması alındı, ve ağırlıklar not edildi. Tartılma işlemi sonrası her sağ omuza 10 µl. Carrageenan (Carrageenan Lambda, Gelatin-vegetable; irish moss, Type IV Sigma®, Germany) enjeksiyonu daha önce tecrübe edilen teknik (12) ile yapıldı. Enjeksiyon sonrası ratlar anestezi etkisinden kurtulup uyanana dek diğerlerinden izole edildi. Daha sonra normal günlük aktivitelerini yapacak şekilde önceki kafeslerine alındı. Ratlara herhangi bir hareket kısıtlaması uygulanmadı. Tam bir hafta sonra ratlar aynı işlemlerden geçerek; intraperitoneal anestezi uygulandı,

tartıldı, fizik muayeneden geçirildi ve subakromiyal enjeksiyonu tekrarlandıktan sonra kafesine yerleştirildi. Tüm bu işlemler toplam 8 hafta süresince yinelendi.

Toplam 8 hafta süren enjeksiyonlar sonrasında 2 hafta daha herhangi bir işlem yapılmadan beklenecek şekilde, inflamasyonun olgunlaşması için süre tanındı. Daha sonra aynı 6 rat, ötenazi dozunda intraperitoneal Ketamin Hidroklorid uygulanılarak (150 mg./kg.) sakrifiye edildi.

Ratların enjeksiyon yapılan sağ omuzları; humerus, klavikula ve skapulayı içerecek şekilde “en bloc” olarak çıkarıldı. Daha sonra örnekler formik asit içinde bir iki gün dekalsifiye edilerek parafine konuldu. Ardından 4 mm. kalınlığında kesitlere, Hematoksilen-Eozin boyaması uygulandı.



Resim 2: Ratın sağ skapulotorasik eklemi sınır olacak şekilde ekstremitesinin “en bloc” eksizyonu



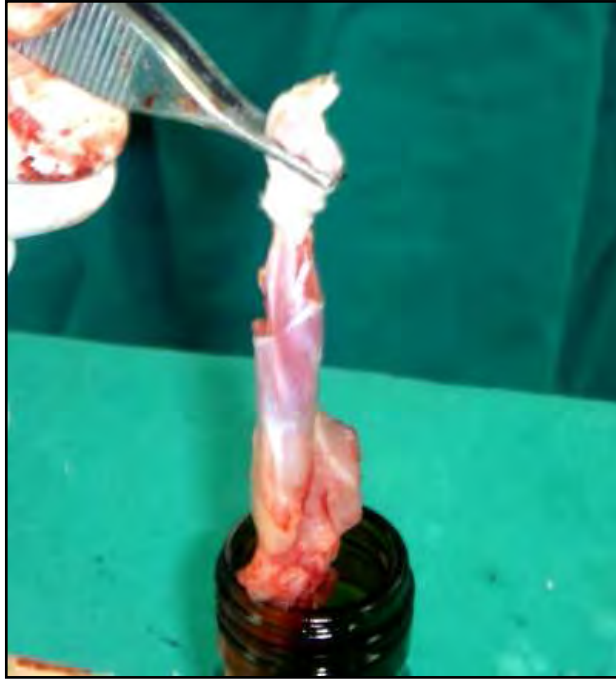
Resim 3 : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri. (medial görünüm)



Resim 4 : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri. (lateral görünüm)



Resim 5 : Skapulotorasik eklem. (torakal yüzü)



Resim 6 : %10'luk formalin tespit solüsyonunda 24 ve 48 saat arasında tespit

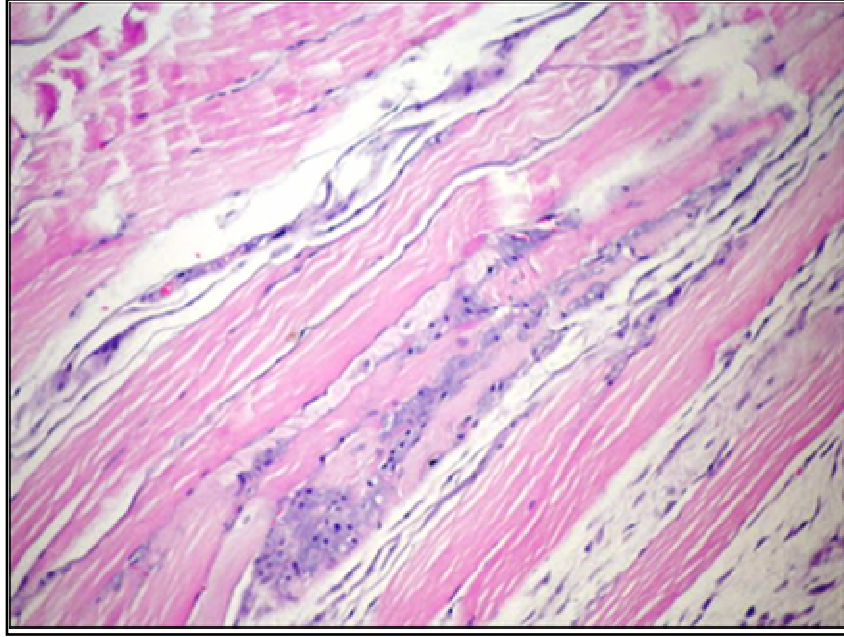
4. BULGULAR

Kontrol grubundaki 6 örneğin 6'sında bursal doku içinde Hematoksilen-Eozin boyalı preparatlarda inflamatuvar yanıt görüldü. Bu altı olgudan birinde inflamatuvar yanıt hafif şiddette, diğer olgularda ise daha saptandı. Özellikle makrofajlardan zengin inflamasyon belirgindi.

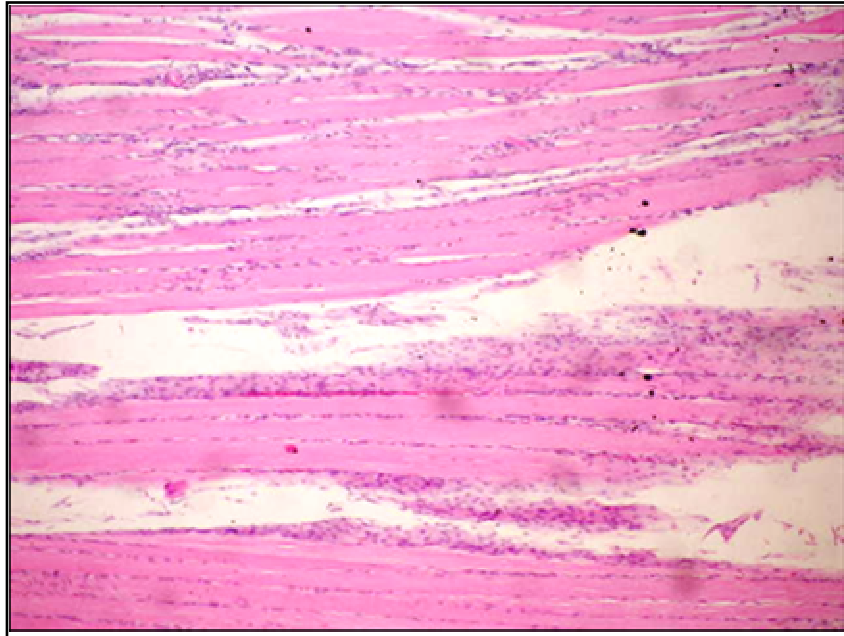


Resim 7 : Normal tendon × 20 optik büyütme, HE

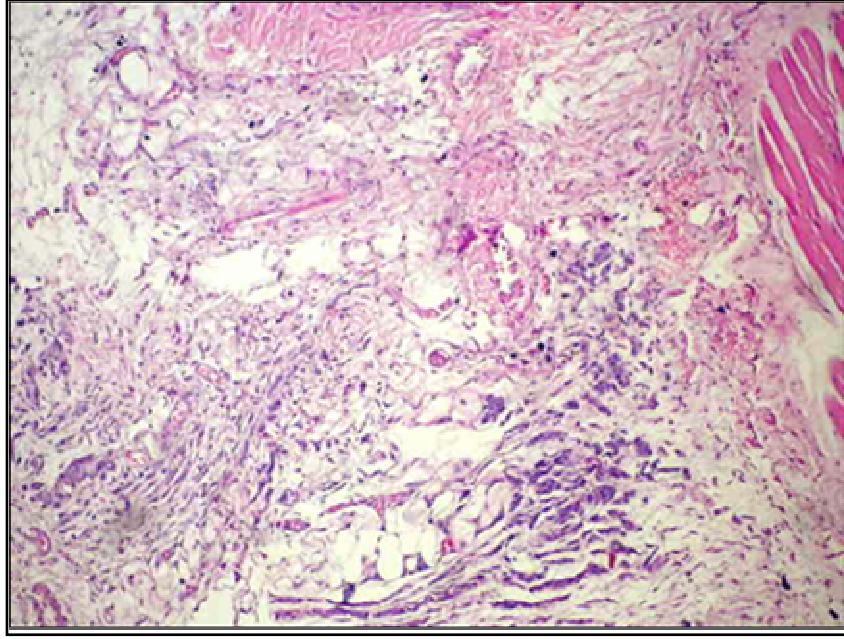
Dokularda inflamasyon dışında dev hücre formasyonu, fibrozis, ossifikasyon ya da granülomatöz değişiklikler gibi farklı bulgular saptanmadı.



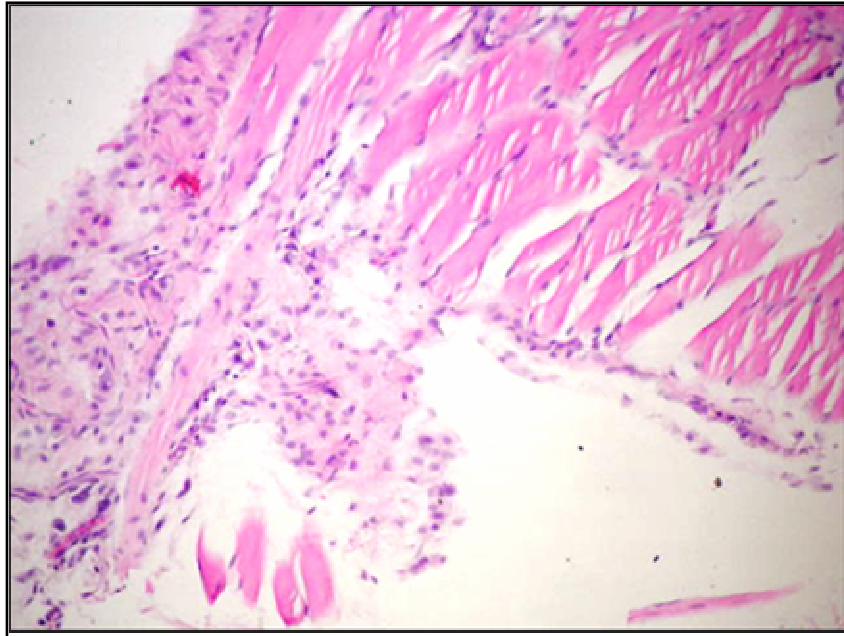
Resim 8: İnflamasyon, × 20, HE inflamasyonu gösteren tendon



Resim 9: İnflamasyon, × 20, HE inflamasyonu gösteren tendon



Resim 10: Tendon çevresi inflamasyon × 20 optik büyütme, HE



Resim 11: İnflamasyon, makrofaj ağırlıklı, × 20 optik büyütme, HE

Subakromiyal bursit oluşturulabildiği ortaya konulduktan sonra kalan 23 adet rat yine randomize olarak iki gruba ayrıldı. Grupların her birine daha önce tarif edilen yöntemler ile toplam 8 hafta boyunca; anestezi, işaretleme, tartılma, enjeksiyon ve aynı kafese yeniden yerleştirme işlemleri steril şartlar altında özenle yinelenildi. Ardından 2 hafta inflamasyonun olgunlaşma süreci beklendi.

Grup I

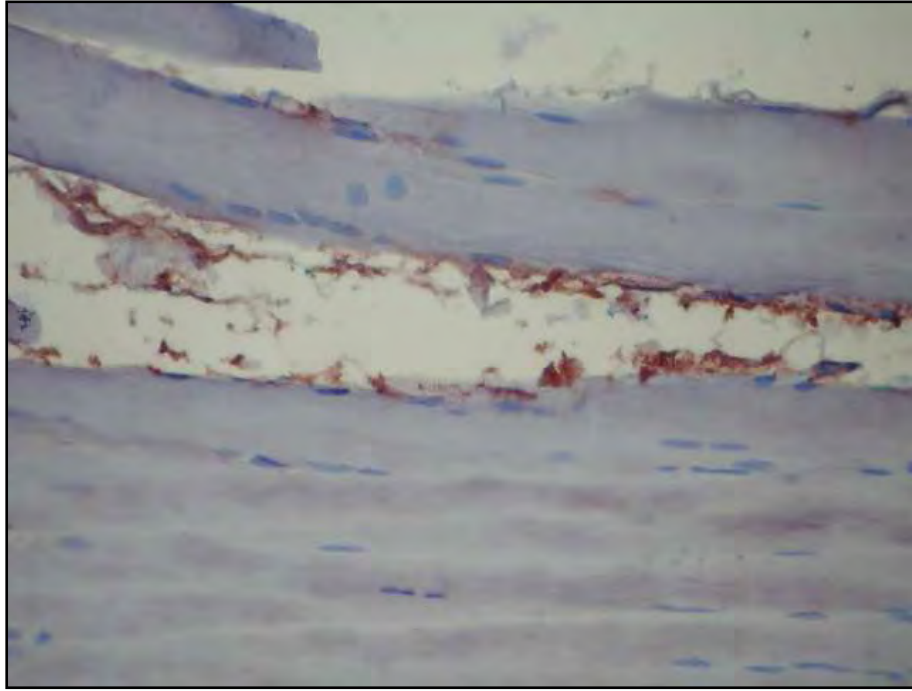
Grup I'de daha önce randomize belirlenmiş toplam 11 adet rat bulunmaktaydı. Bu ratlara son carrageenan enjeksiyonundan 2 hafta sonra yine aynı omuzlarına enjekte edilmek üzere 5 µl (0.3 mg/kg) triamsinolon asetonid kristal süspansiyonu (Kenacort®- A İntramusküler Retard Ampul, Bristol Myers Squibb Co., New Jersey USA lisansı ile Fako İlaçları İstanbul, Türkiye) hazırlandı. Triamsinolon enjeksiyonu 3 hafta boyunca tekrarlandı. 3'üncü dozdan 1 hafta sonra grup I'deki tüm ratların daha önceden tarif edildiği şekilde sakrifikasyon sonrası omuz eklemleri çıkarıldı ve uygun transport şartlarında patoloji laboratuvarına gönderildi.

Patoloji laboratuvarında yeni örnekler yine %10'luk formalin tespit solüsyonunda 24 ve 48 saat arasında bekletildi. Ardından %10 formik asit içinde bir iki gün dekalsifiye edildi ve parafine koyuldu. Rezeksiyon materyalleri %4'lük tamponlanmış formaldehitte fikse edildikten sonra parafinle bloklandı. Parafin bloklardan 3 aminopropyltriethoxysilane kaplı lamlara 2-4 µ kalınlıkta kesitler alınarak immünohistokimyasal inceleme yapıldı. Boyamada sırası ile şu işlemler yapıldı.

1. Kesitler etüvde 60°C de 1 saat deparafinize edildi.
2. Daha sonra ksilende 10 dakika, %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi ve su ile yıkandı.

3. %10'luk sitratla tamponlanmış solüsyon içine yerleştirilen lamlar mikrodalgada maksimum güçte (800 watt) 15 dakika bekletildi.
4. Daha sonra güç yarıya düşürülerek 15 dakika daha mikrodalgada bekletildi.
5. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
6. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek giderildi.
7. Distile su ile yıkanan lamlar 3x5 TBS ile muamele edildikten sonra üzerlerine protein blokajı damlatıldı.
8. Beş dakika sonra blokaj yıkanmadan lamların üzerine fibronektin, VEGF ve TGF- β 3 antikoru damlatıldı.
9. Primer antikorda 30 dakika bekletildikten sonra PBS'e alınarak 5 dakika yıkandı.
10. Daha sonra biyotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve PBS'te 5 dakika yıkandı.
11. Peroksidaz konjuge antikor ile 20 dakika bekletildi. Daha sonra 5 dakika PBS'te yıkandı.
12. Kromojende AEC (Aminoetil carbozol) 5-10 dakika bekletildi.
13. Musluk suyu altında yıkanan lamlar hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı.
14. Dehidrate edildi, kurutuldu ve aquase kapama jeli ile kapatıldı.

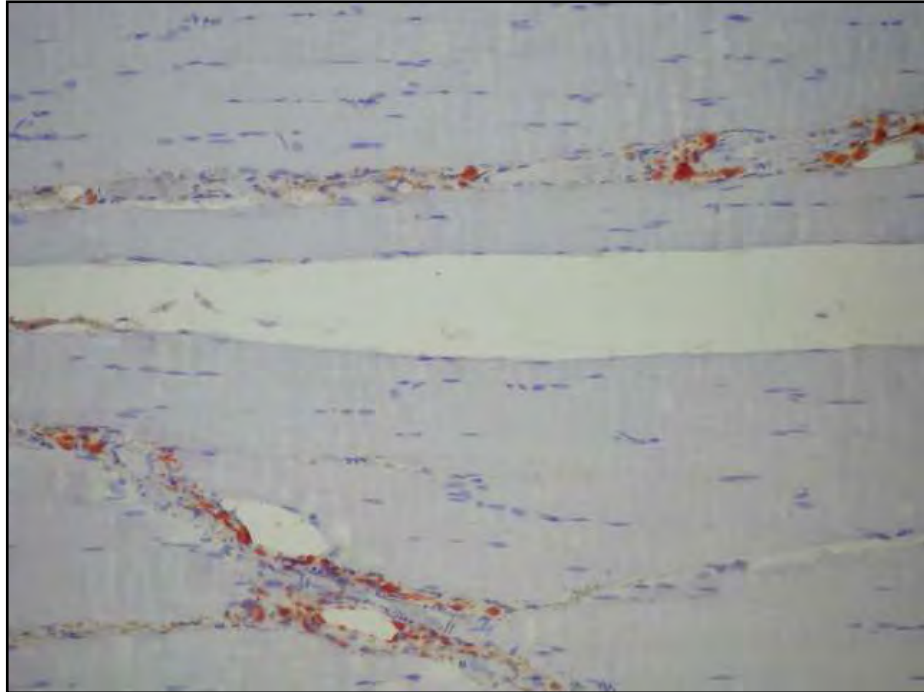
Bakılan preparatlarda gözlenen değişiklikler yine iki ayrı başlık altında değerlendirildi; bursal dokuda saptanan değişiklikler ve tendon dokusunda saptanan değişiklikler. Preparatlarda hematoxilen eozin ile boyalı 12 adet direk preparatın özellikle 2'sinde inflamasyon daha yoğundu. Kalan 8 olguda inflamasyon izlenmedi. Ancak bu 8 olgunun 3'ünde çok seyrek makrofaj infiltrasyonu gözlendi. "Seyrek makrofaj infiltrasyonu" olarak gözlenen preparatlar negatif grup içerisinde değerlendirildi. İnflamasyon görülen grupta ek olarak, inflamatuvar hücre dışında 7 olguda ödem, bu grubunda 5'inde vasküler proliferasyon mevcuttu. 20 büyütmede 3 ayrı alanda makrofaj veya lenfosit varlığı inflamatuvar cevap olarak kabul edildi. Fibronektin ve VEGF için 3 ayrı alanda 20 büyütmede şiddete bakılmaksızın boyanma varlığı pozitif, 3 alandan az boyanma ise negatif kabul edildi. TGF- β ile boyama non spesifiktir olarak gözlendi.



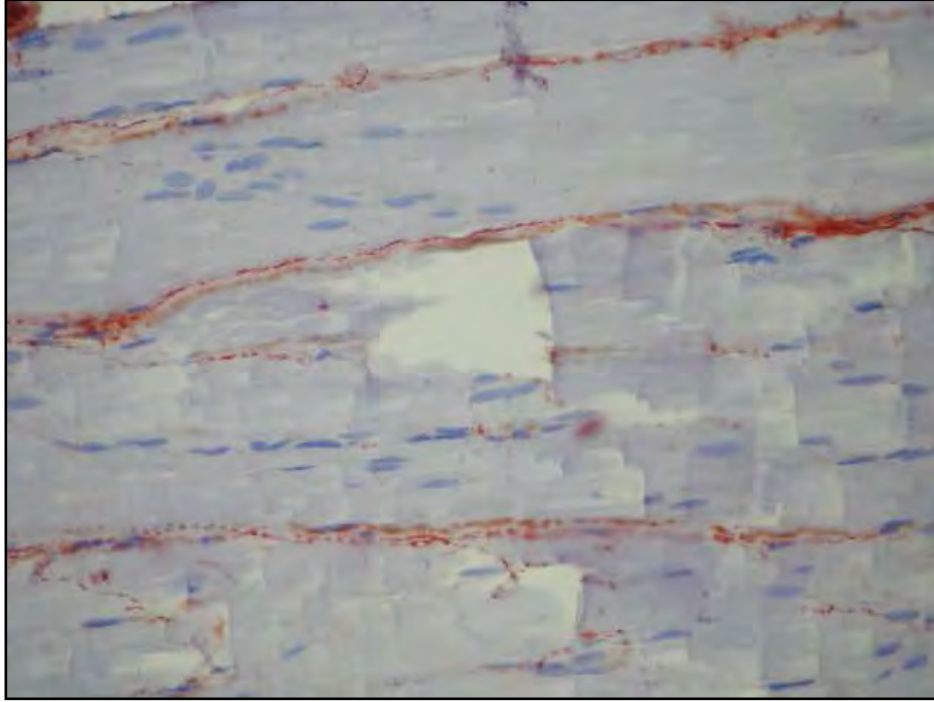
Resim 12: VEGF $\times 10$ optik büyütme



Resim 13: VEGF \times 40 optik b \ddot{u} y \ddot{u} tm \ddot{e}



Resim 14: Fibronektin \times 20 optik b \ddot{u} y \ddot{u} tm \ddot{e}



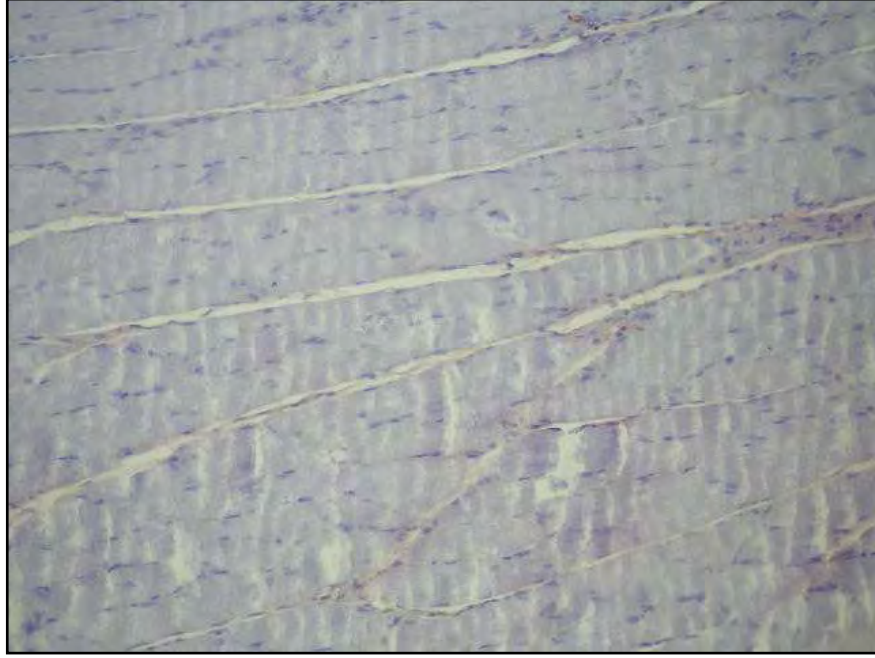
Resim 15: Fibronektin × 20 optik büyütme

BURSA DOKUSU	Rat	VEGF	Fibronectin
SALİN YAPILAN	1	yok	Var
	2	var	Var
	3	yok	Yok
	4	yok	Var
	5	var	Yok
	6	yok	Yok
	7	yok	Yok
	8	yok	Yok
	9	yok	Var
	10	yok	Yok
	11	var	Yok
STERÖİD YAPILAN	1	var	Var
	2	yok	Yok
	3	var	Var
	4	yok	Yok
	5	yok	Yok
	6	yok	Yok
	7	yok	Var
	8	var	Var
	9	var	Yok
	10	var	Yok
	11	var	Yok
	12	var	Yok

Grup II

Grup I'de daha önce randomize belirlenmiş toplam 12 adet rat bulunmaktaydı. Bu ratlara son carrageenan enjeksiyonundan 2 hafta sonra yine aynı omuzlarına enjekte edilmek üzere 5 µl fizyolojik salin (9mg/kg) hazırlandı. Salin enjeksiyonu 3 hafta boyunca tekrarlandı. Son salin dozundan 1 hafta sonra grup II'deki tüm ratların daha önceden tarif edildiği şekilde sakrifikasyon sonrası omuz eklemleri çıkarıldı ve uygun transport şartlarında patoloji laboratuvarına gönderildi.

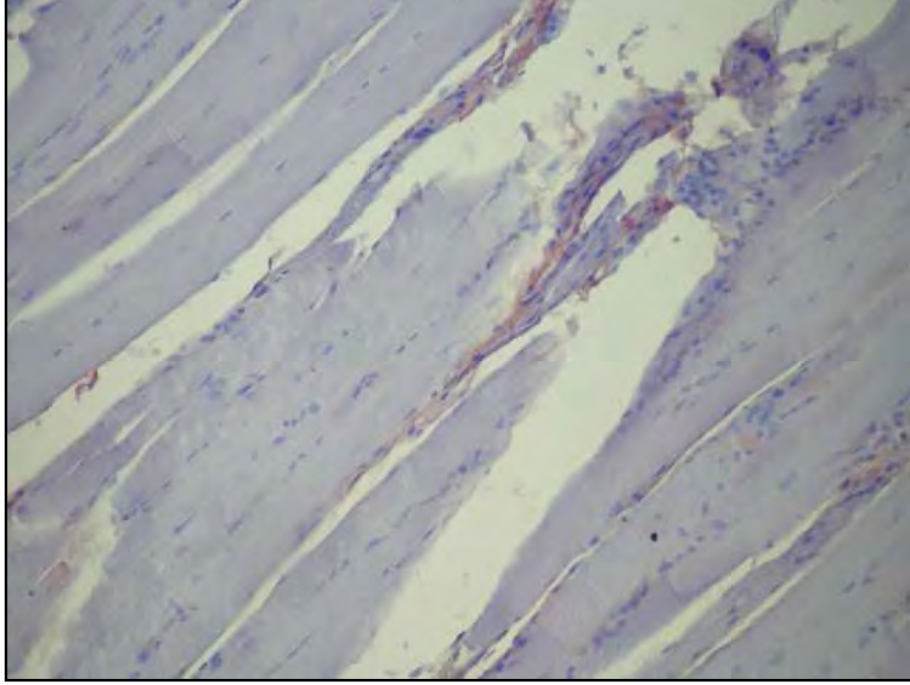
Hematoksilen eozin boyalı preparatlarda bursada ödem, 3 olguda vasküler proliferasyon izlendi. Ancak damar sayısındaki artım mikroskobik olarak 3 ayrı 20 büyütme alanından daha az alanda görüldü. Bir olguda seyrek makrofaj infiltrasyonu saptandı. Fibronektin ve VEGF boyanma şiddetine ve boyanma alanının yoğunluğuna göre 2 grupta değerlendirildi. Işık mikroskobunda 3 ayrı 20 büyütme alanında inflamasyonun varlığı, fibronektin ve VEGF ve TGF-β3 boyanması pozitif, 3 alandan az boyanma negatif olarak kabul edildi. Hematoksilen-Eozin boyalı preparatlarda 11 olgunun 6'sında tendonlarda fragmantasyon mevcuttu.



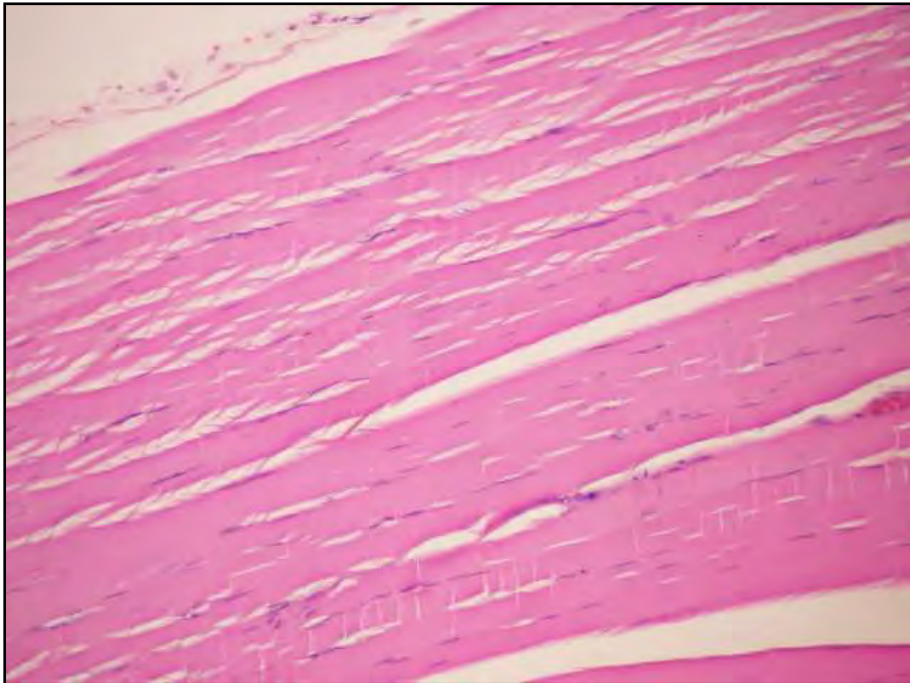
Resim 16: Salin yapılan VEGF (-) preparat



Resim 17: Salin yapılmıs VEGF (+) preparat



Resim 18: Salin yapılmış fibronektin (+) preparat



Resim 19: Tendonda fragmantasyon

TENDON	RAT	VEGF	FİBRONEKTİN	ENFLAMASYON
SALİN YAPILAN	1	Yok	var	yok
	2	Var	var	var
	3	Yok	yok	yok
	4	Var	var	yok
	5	Var	yok	var
	6	Yok	yok	yok
	7	Yok	yok	yok
	8	Yok	var	yok
	9	Var	var	yok
	10	Yok	yok	yok
	11	Yok	yok	var
STEROİD YAPILAN	1	Yok	var	var
	2	Yok	yok	yok
	3	Var	var	var
	4	Var	yok	var
	5	Var	var	var
	6	Var	yok	var
	7	Var	var	var
	8	Var	var	var
	9	Var	var	var
	10	Yok	var	yok
	11	Yok	var	var
	12	Yok	var	yok

İstatistiksel Analiz

Bursada fibronectin ve VEGF; tendonda fibronectin, VEGF ve enflamasyon oluşumunun salin veya steroid uygulanmasından bağımsız olup olmadığı test edildi. Küçük örneklem genişlikli kategorik veri analizi için Fisher's Exact Test kullanıldı.

- 1) H₀: Bursada fibronectin oluşumu steroid veya salin kullanımından bağımsızdır.
H₁: Steroid bursada fibronectin oluşumunu baskılar.

Enjekte Edilen		Fibronectin		Toplam
		Var	Yok	
Salin	Frekans	4	7	11
	Yüzde	17.39	30.43	47.83
	Sıra Yüzdesi	36.36	63.64	
	Kolon Yüzdesi	50.00	46.67	
Steroid	Frekans	4	8	12
	Yüzde	17.39	34.78	52.17
	Sıra Yüzdesi	33.33	66.67	
	Kolon Yüzdesi	50.00	53.33	
Toplam	Frekans	8	15	23
	Yüzde	34.78	65.22	100.00

Tablo 1: Bursa için Steroid/Fibronectin Kontrollü Deney Çalışması
Frekans Prosedürü

Fisher's Exact Test	
Hücre (1,1) Frekans (F)	4
Sol taraflı olasılık Pr ≤ F	0.72210
Sağ taraflı olasılık Pr ≥ F	0.61105

Tablo 2 : Örneklem genişliği, 23

Testin sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.7221$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha \ll p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt bulunamadı. %99 eminlik derecesinde, bursada fibronektin oluşumunda salin veya steroidin anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün değildir.

- 2) H_0 : Bursada VEGF oluşumu steroid veya salin kullanımından bağımsızdır.
 H_1 : Steroid bursada VEGF oluşumunu baskılar.

Enjekte Edilen		VEGF		Toplam
		Var	Yok	
Salin	Frekans	3	8	11
	Yüzde	13.04	34.78	47.83
	Sıra Yüzdesi	27.27	72.73	
	Kolon Yüzdesi	30.00	61.54	
Steroid	Frekans	7	5	12
	Yüzde	30.43	21.74	52.17
	Sıra Yüzdesi	58.33	41.67	
	Kolon Yüzdesi	70.00	38.46	
Toplam	Frekans	10	13	23
	Yüzde	43.48	56.52	100.00

Tablo 3 : Bursa için Steroid/VEGF Kontrollü Deney Çalışması

Frekans Prosedürü

Fisher's Exact Test	
Hücre (1,1) Frekans (F)	3
Sol taraflı olasılık $Pr \leq F$	0.14019
Sağ taraflı olasılık $Pr \geq F$	0.97403

Tablo 4 : Örneklem Genişliği, 23

Testin sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.14019$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha \ll p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt

bulunamadı. %99 eminlik derecesinde, bursada VEGF oluşumunda salin veya steroidin anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün değildir.

3) H_0 : Tendonda fibronektin oluşumu steroid veya salin kullanımından bağımsızdır.

H_1 : Steroid tendonda fibronektin oluşumunu baskılar.

Enjekte Edilen		Fibronektin		Toplam
		Var	Yok	
Salin	Frekans	5	6	11
	Yüzde	21.74	26.09	47.83
	Sıra Yüzdesi	45.45	54.54	
	Kolon Yüzdesi	35.71	66.67	
Steroid	Frekans	9	3	12
	Yüzde	39.13	13.04	52.17
	Sıra Yüzdesi	75.00	25.00	
	Kolon Yüzdesi	64.29	33.33	
Toplam	Frekans	14	9	23
	Yüzde	60.87	39.13	100.00

Tablo 5 : Tendon için Steroid/Fibronektin Kontrollü Deney Çalışması
Frekans Prosedürü

Fisher's Exact Test	
Hücre (1,1) Frekans (F)	5
Sol taraflı olasılık $Pr \leq F$	0.15351
Sağ taraflı olasılık $Pr \geq F$	0.97085

Tablo 6 : Örneklem Genişliği, 23

Testin sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.1535$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha \ll p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt bulunamadı. %99 eminlik derecesinde, tendonda fibronektin oluşumunda salin veya steroidin anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün değildir.

4) H_0 : Tendonda VEGF oluşumu steroid veya salin kullanımından bağımsızdır.

H_1 : Steroid tendonda VEGF oluşumunu baskılar.

Enjekte Edilen		VEGF		Toplam
		Var	Yok	
Salin	Frekans	4	7	11
	Yüzde	17.39	30.43	47.83
	Sıra Yüzdesi	36.36	63.64	
	Kolon Yüzdesi	36.36	58.33	
Steroid	Frekans	7	5	12
	Yüzde	30.43	21.74	52.17
	Sıra Yüzdesi	58.33	41.67	
	Kolon Yüzdesi	63.64	41.67	
Toplam	Frekans	11	12	23
	Yüzde	47.83	52.17	100.00

Tablo 7 : Tendon için Steroid/VEGF Kontrollü Deney Çalışması
Frekans Prosedürü

Fisher's Exact Test	
Hücre (1,1) Frekans (F)	4
Sol taraflı olasılık $Pr \leq F$	0.26320
Sağ taraflı olasılık $Pr \geq F$	0.93009

Tablo 8 : Örneklem Genişliği, 23

Testin sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.2632$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha \ll p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt bulunamadı. %99 eminlik derecesinde, tendonda VEGF oluşumunda salin veya steroidin anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün değildir.

5) H_0 : Tendonda enflamasyon oluşumu steroid veya salin kullanımından bağımsızdır.

H_1 : Steroid tendonda enflamasyon oluşumunu baskılar.

Enjekte Edilen		VEGF		Toplam
		Var	Yok	
Salin	Frekans	3	8	11
	Yüzde	13.04	34.78	47.83
	Sıra Yüzdesi	27.27	72.73	
	Kolon Yüzdesi	25.00	72.73	
Steroid	Frekans	9	3	12
	Yüzde	39.13	13.04	52.17
	Sıra Yüzdesi	75.00	25.00	
	Kolon Yüzdesi	75.00	27.27	
Toplam	Frekans	12	11	23
	Yüzde	52.17	47.83	100.00

Tablo 9 : Tendon için Steroid/Enflamasyon Kontrollü Deney Çalışması

Frekans Prosedürü

Fisher's Exact Test	
Hücre (1,1) Frekans (F)	11
Sol taraflı olasılık Pr <= F	0.02963
Sağ taraflı olasılık Pr >= F	0.99721

Tablo 10 : Örneklem Genişliği, 23

Testin sonucuna göre, hesaplanan $p = 0.0296$ değerini $\alpha = 0.01$ değeri ile kıyasladığımızda, $\alpha < p$ olduğu için sıfır hipotezini reddedecek yeterli kanıt bulunamadı. %99 eminlik derecesinde salin veya steroidin tendonda enflamasyon oluşumunda anlamlı ölçüde farklı etki yaptığını söylemek mümkün değildir.

Sonuç olarak örneklem genişliğinin küçüklüğü de göz önünde bulundurulursa, denek sayısı artırılarak testin ki-kare testi gibi farklı testlerle birlikte tekrarı daha sağlıklı sonuçlara ulaşmamızı sağlayacaktır.

5. TARTIŞMA

Omuz ağrısı yapan pekçok farklı neden arasında en yaygın ve iyi bilineni subakromiyal sıkışma sendromudur. (87) Subakromiyal Sıkışma Sendromu, supraspinatus tendonu, subakromiyal bursa ve bisipital tendonun, humerus ile korakoakromiyal ark arasında sıkışması sonucu oluşur. (88, 89) Omuzun ağrılı hastalıkları impingement sendromu tanısı altında gruplandırılır. Omuz bölgesindeki ağrı akut yada kronik olabileceği gibi hasta önkola yayılan ağrı ile de başvurabilir. Omuz hareket açıklığı ağrı yada subakromiyal patoloji nedeniyle sınırlı olabilir. Hastada genellikle istirahat ve gece ağrısı şikayeti vardır. Semptomlar ya kendiliğinden geriler, ya da devam edip kronikleşir. Tanı klinik muayene ve anamneze dayandırılır. Tendon rüptürü ya da inaktiviteye bağlı supraspinatus ve infraspinatus atrofisi gelişebilir. Çoğu vakada aktif omuz hareket genişliği azalmıştır. Özellikle ağrılı ark denilen abduksiyonun 70° ve 120°'nci dereceleri arası kısıtlıdır. İmpingement bulgusu genellikle pozitifdir. İmpingement sendromu tanısı desteklemek için subakromiyal aralığa lokal anestetik yapılabilir. Enjeksiyon sonrası ağrıda azalma olması impingement testinin pozitif olduğu anlamına gelir. Ağrının subakromiyal bursadan kaynaklandığının göstergesidir. (90)

İmpingement patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Yaş, travma, aşırı yüklenme, hipovaskülerite, glenohumeral instabilite, kas imbalansı, skapulorasik disfonksiyon ve konjenital anomaliler gibi birden fazla etiyolojik faktör rol oynar. En bariz patolojik değişiklik subakromiyal boşlukta bulunmuştur. (91, 92, 93) Ekstrinsik terimi supraspinatus dışı dokuları, intrinsik terimi tendondaki primer değişiklikleri anlatır.

Neer'a göre subakromiyal bölgedeki bu bir dizi değişiklik akut bursitten, supraspinatus parsiyel ve tam kat yırtık oluşumuna kadar gelişir; (94)

Evre 1: rotator manşette geri dönebilir ödem ve inflamasyon

Evre 2: rotator manşet ve subakromiyal bursada fibrozis ve kalınlaşma

Evre 3: rotator manşette parsiyel veya tam kat yırtık ve kemik oluşumlar

Omuz impingement sendromu primer ve sekonder olarak da sınıflandırılmaktadır. Primer impingementin sebebinin, aşırı ve tekrarlamalı subakromiyal yüklenme sırasında subakromiyal dokulara uygulanan tekrarlayan mikrotravmalar olduğu teorisi öne sürülmüştür. Subakromiyal sıkışma sendromunun, sık sık baş hizasının yukarısında gerçekleştirilen aktiviteleri gerektiren sporları yapan atletlerde görüldüğü kaydedilmiştir. (96, 97) Rotator manşetin dejenerasyonu ve rüptürü, azalmış vaskülarite, tendonun fazla kullanılması ya da tendonun normal iyileşme cevabının yetersizliği gibi primer olarak intrinsek faktörlere bağlı olabilir. Kadavra çalışmalarında yapışma yerinin proksimalinde, supraspinatus tendonu içerisinde, relatif olarak hipovasküler bölge gösterilmiştir. (24) Bu azalmış mikrovaskülarite alanı kritik zon olarak adlandırılır, dejenerasyon ve rüptüre zemin hazırlar. Tekrarlayıcı mikrotravma hipovasküler ortamda iyi tamir edilemez, tendon dejenerasyonu ve sekonder zayıflığa yol açar. Sonuçta normalde tolere edilebilecek zorlu yüklenmeler, bu alanın yetmezliği sonucu rüptürle sonuçlanır. Yaşlanma intrinsek tendon dejenerasyonunda en yaygın faktördür. (98) Budoff ve arkadaşları, sıkışmanın rotator manşet kaslarının zayıflığı ve supraspinatus tendonunun aşırı gerilmesi nedeniyle oluşan patolojik değişiklikler sonucunda olduğunu bildirmişlerdir. (99) Başlangıçta oluşan anjiofibroblastik değişiklikler ardından rotator manşette kalsifikasyon, erozyon ve buna bağlı sıkışma meydana gelmektedir. Buna göre birincil etken özellikle supraspinatusta olan gerilmeye bağlı yüklenmedir. Manşetin yaralanması ve zayıflaması instabiliteye ve humerusun migrasyonuna, bu durum da sekonder sıkışmaya neden olmaktadır.

Kortizolün özellikle enflamasyon ve allerjik hastalıkların tedavisinde kullanılan önemli bir ilaç olmaya başlaması, antiinflamatuvar etkinlik gösteren bir çok sentetik steroidin araştırılması ve geliştirilmesini sağlamıştır (100) Glukokortikoidlerin fizyolojik olarak karbonhidrat, protein, yağ ve pürin metabolizmaları ile su-elektrolit homeostazı, kardiovasküler sistem, sinir sistemi, böbrek fonksiyonları, kemik ve kaslar üzerinde çeşitli etkileri vardır. Bunların yanında çok önemli özelliklerinden biride antiinflamatuvar ve immunsupressif etkileridir. Bu etkileri büyük oranda lökositlerin fonksiyonlarını inhibe etmelerine dayanır. Antiinflamatur etkinlikte rol oynayan mekanizmalar şu şekilde açıklanabilir:

- 1- Nötrofil lökositlerin ve monositik makrofajların olay yerine migrasyonunu önler,
- 2- Aktive edilmiş lenfositlerden salgılanan ve inflamasyon oluşmasında önemli rol oynayan migrasyonu inhibe edici faktörün makrofajları etkilemesini önler,
- 3- TNF(Tümör nekrozis faktör) ve IL-1(interlökin-1) sentezini inhibe eder,
- 4- Fosfolipaz A2 enzimini inhibe eden lipokortin sentezini indükleyerek araşidonikosit yapımını ve dolayısı ile lökotrien ve prostoglandin oluşumunu engeller. (101)

Sitokinlerin yara iyileşmesinin yanında, (102) immün ve inflamatuvar yanıt indüksiyonunda da önemli görevleri vardır. Rotator manşet hastalığı, subakromiyal bursiti olan hastalarda da bu sitokinlerin indüklediği inflamasyon glenohumeral eklem ve subakromiyal boşlukta birçok çalışmada gösterilmiştir. (28, 103, 29, 104, 105, 21, 106, 107, 79)

Lokal tedavide enjeksiyon eklem içine, bursa içine, tendon kılıfı veya entezislere yapılabilir. Lokal tedavi için uzun etkili depo glukokortikoidlerin mikrokristal solüsyonları kullanılır. Çözünürlüğü düşük olan preparatlar uzun etkili antienflamatuvar etki oluştururken, çözünürlüğü yüksek preparatlar geçici iyilik oluştururlar. (108) Günümüzde intraartiküler enjeksiyonda en uygun seçenek olarak triamsinolon heksasetonid gösterilmektedir. (109, 87, 110) Bu seçimin nedeni çözünürlüğünün en az olması ve uzun zaman etkili olmasıdır. Enjeksiyon tam kavite içine yapılamamışsa, deri altına infiltre edilmiş ise lokal deri nekrozlarına neden olabilir. Bu nedenle de diğer yumuşak doku bölgelerinde kullanımı tercih edilmez. (109, 87) Bu gruptan çözünürlüğü az olan diğer bir ilaç triamsinolon asetoniddir. Betametazon sodyum fosfat, bunlara yakın etkiye sahip bir başka glukokortikoiddir. Metilprednizolonun depo formları ise bunlara oranla daha kolay çözünebilmektedir. Enjeksiyon yaparken dikkat edilmesi gerekenler şunlardır:

- 1- Asepsi kurallarına uymak
- 2- Tendona, periosta, cilt altına ve damar içine ilaç vermemeye büyük dikkat göstermek
- 3- Enfeksiyon gibi kullanımının problemleri artırabileceği durumlarda kullanmamak
- 4- Akut travmalarda kullanmamak
- 5- Aynı bölgeye bir yıl içinde enjeksiyonlar arasında en az 2-6 hafta ara olmak üzere üçten fazla enjeksiyondan kaçınmak. (110)

Lokal kortikosteroid kullanımında, sistemik kullanımdaki yan etkiler fazla bulunmamakla birlikte, potansiyel yan etkilerden yoksun değildir. Başlıca komplikasyonları şunlardır:

- 1- Mikroorganizmaların enjektör ile inokülasyonu
- 2- Kıkırdak zedelenmesi (mekanik yolla olabileceği gibi kondroitin sülfat sentezinin engellenmesi ile biyokimyasal yolla da olabilir)
- 3- Yabancı cisim reaksiyonu
- 4- Yumuşak dokuda atrofi
- 5- Tendon rüptürü
- 6- Aseptik kemik nekrozu
- 7- Sistemik yan etkiler (111, 87)

Kortikosteroidin subakromiyal enjeksiyonu potansiyel yan etkilere de sahiptir. İntratendinöz kortikosteroid enjeksiyonu sonrasında kademeli güç kaybı gösterilmiştir. Klinik olarak tendona direk enjeksiyon geç rüptür ile sonuçlanabilir. Cilt altı atrofi kortikosteroid enjeksiyonu sonrasında bildirilmiştir. Kortikosteroidin artiküler kartilaja

da zararlı etkileri bulunabilir. Bjorkenheim ve arkadaşları 3'den fazla preoperatif kortikosteroid enjeksiyonunun yetersiz rotator manşet tamiri ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Multipl enjeksiyonlardan tam kalınlıklı rotator manşet yırtığı olduğu bilinen hastalarda kaçınılmalıdır. (112)

Yapılan hayvan çalışmalarında kortikosteroidlerin tendonlar üzerinde bir takım yan etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir. (113, 114, 37, 41) Kortizonun granülasyon ve bağ doku formasyonunu inhibe ettiğini, ligamanın biyomekanik özelliklerini değiştirdiğini bildiren çalışmalar vardır. Buna karşın Mackie ve Phelps sağlıklı tendonlarda tekrarlanan kortikosteroid enjeksiyonunun mekanik özelliklerde belirgin değişiklik oluşturmadığını belirtmişlerdir. Kapetanos da tekrarlanan ufak doz lokal kortikosteroid enjeksiyonu ile tendon iyileşmesinde, kontrol grubuna göre bir farklılık saptamamıştır. (38) Campbell ve Wiggins 1996'da, farelerde steroid enjeksiyonunun ligaman iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, tek doz deksametazon enjeksiyonunun ligaman iyileşmesinde biyomekanik ve histolojik olarak herhangi bir zararlı etkisini görmediklerini belirtmişlerdir. (115) Aksine Mantone ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da, lokal steroid enjeksiyondan sonra omuz rotator manşet kaslarında en az 14 gün süreyle kayda değer bir zayıflık ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Ek iyatrojenik patolojileri önlemek için, enjeksiyonu takiben en az iki hafta boyunca ilgili güçlendirme programlarının uygulanmasından kaçınılması gerekir. Her bir enjeksiyon en az iki ya da üç ay ara ile gerçekleştirilmek kaydıyla, maksimum üç enjeksiyon tavsiye edilmektedir. (116)

Petri ve Dobrow, ağrılı omuz tedavisinde subakromiyal bursaya triamsinolon enjeksiyonu ile naproksen tedavisini karşılaştırmışlar ve triamsinolonun ağrı ve klinik indekste naproksene oranla anlamlı derecede üstün olduğunu göstermişlerdir. (117) Subakromiyal sıkışma sendromunda, subakromiyal alana lokal steroid enjeksiyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle Evre 1 ve 2 subakromiyal sıkışma sendromunda ağrının azaltılmasında başarılı olduğu belirtilmektedir. (118) Rotator manşet yırtıklarında ise kullanımı pek önerilmemektedir. (87) Bununla beraber Weiss, Samilson ve Brider kronik rotator manşet yırtıklarının tedavisinde lokal kortikosteroid enjeksiyonunu uyguladıklarını ve anlamlı iyilik elde ettiklerini belirtmişlerdir. (119)

Rotator manşet yırtığı olan yaşlı hastalarda da enflamasyonu azaltarak etki gösterdiği belirtilmiştir. (118)

Tillander ve arkadaşları birer hafta arayla insanda kullandığımız lokal kortikosteroid dozuna eşdeğer steroid dozunu ratlarda 3'er ve 5'er kez tekrarlayan dozlarda enjekte ederek araştırmıştır. Çalışmalarında infraspinatus ve supraspinatus tendonunun makroskopik ve histolojik değişimleri incelemişler; fizyolojik salin alan kontrol grubu ve 3'er kez steroid alan diğer grup arasında patolojik fark olduğuna dair kanıt bulamamışlardır. Ancak 5 kez steroid enjeksiyonu alan diğer grupta ise rotator manşet tendonunun bariz morfolojik değişiklikler gösterdiğini, daha beyaz ve daha az düzgün yüzeye sahip olduğunu, histolojik olarak tendonda nekroz belirtileri ve kollojen demet fragmentasyonu geliştiğini saptamışlardır. Aynı zamanda kollojen demetlerinin arasında da çok sayıda bariz inflamatuvar hücreler bulmuşlardır. (3)

Benzer şekilde Akpınar ve arkadaşları da insana verilen eşdeğer dozda tekrarlayan metilprednizolon ve betametazon yan etkilerini ratlarda araştırılmıştır. Subakromiyal enjeksiyonu toplam 8 hafta 2'şer haftalık aralıklarla yapmışlardır. Benzer şekilde her iki grupta da infraspinatus ve supraspinatus tendonlarında salin yapılan gruba göre makroskopik olarak tendon renginde açılma ve yumuşama, histolojik olarak ta bariz nekroz, kollojen demet fragmentasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit etmişlerdir. (12) Yapılan bir başka çalışmada da, klinik olarak subakromiyal kortikosteroid enjeksiyonu sonrası özellikle ilk üç hafta agresif omuz hareketleri ve germe egzersizleri açısından dikkatli olunması gerektiği, enjeksiyonların rotator manşet tendonları üzerinde önemli biyomekanik etkilere sahip olduğu vurgulanmıştır. (119)

Bilgilerimize göre rotator manşet yırtığı olan hastaların subakromiyal bursalarında eksprese olan inflamatuvar sitokin ve büyüme faktörleri bursal hipertrofiyi takiben ağrı ve fibrozisi indüklüyor olabilir. Gelişen fibrozis ve hipertrofi bursadaki kayma mekanizmasını bozarak eklemde kontraktüre neden olur. Daha da ötesi hipertrofik bursa subakromiyal boşluktaki sıkışmayı daha da artırır. (21) Çalışmalarda akromiyon ve humerus başı arasında yer alan subakromiyal bursanın rotator manşet hastalıklarında ağrı kaynağı olabileceği öne sürülmüş ve bazı omuz hareketleri esnasında zaman zaman gelişen sıkışma ağrısının (hareket ağrısı) subakromiyal bursada

kronik inflamasyonla sonuçlanabileceği söylenmiştir. (94, 120, 45, 106) Lezyonlu bölgede sinoviyal dokuda üretilen sitokinler vaskülerizasyonu artırıyor olabilir. İmpingement sendromu nedeniyle opere edilen hastalarda yapılan bir çalışmada da, sinoviyal proliferasyonun arttığı gösterilmiş hastaların dokularında, VEGF mRNA ekspresyonu belirgin yüksek bulunmuştur. (79) İmpingement bulgusu olan hastalarda tedavi genellikle tekrarlayan subakromiyal kortikosteroid enjeksiyonunu içerir. 1996'da da Benjamin tarafından, rotator manşet yırtığı olmayan impingement sendromlu hastalarda tek doz subakromiyal triamsinolon enjeksiyonunun ağrı azaltma ya da omuz hareket açıklığını artırma gibi kısa dönem klinik etkileri gösterilmiştir. (121) 2005 yılında Arroll ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da subakromiyal kortikosteroid enjeksiyonunun fayda sağlayabileceği sürenin en fazla 38, en kısa 3 hafta olabileceği, düşük doz uygulamaktansa yüksek doz (50 mg. prednizolon eşdeğeri yada daha fazlası) uygulamanın düşük dozlara oranla daha etkili olabileceği söylenmiştir. (9)

Akut bir travma sonrası ortaya çıkan güç kaybı, ağrı, hareket kısıtlılığı ile kendini gösteren özellikle genç, anestezi riski olmayan klinik ve radyolojik tetkiklerde rotator manşet yırtığı saptanan vakaların dışında subakromiyal sıkışma sendromu tanısı konan tüm hastalara uygulanacak ilk tedavi konservatif olmalıdır. Tedavinin seçiminde hastanın genel sağlık durumu, motivasyonu, hayattan beklentisi, hastalığın bulunduğu evre, hastanın yaşı, hastanın işi göz önüne alınmalıdır. Neer, konservatif tedavinin subakromiyal sıkışma sendromunda önemini kendi kliniğine bir yıl içinde başvuran vakaların ancak %10'una cerrahi tedavi uyguladıklarını, geriye kalan tüm hastaların uygulanan düzenli tedaviden fayda gördüklerini belirterek vurgulamaktadır. (122) Mc Laughlin, akut rotator manşet yırtıklı genç hastalar dışında tüm subakromiya sıkışma sendromlu hastaların başlangıç tedavisinde konservatif tedaviyi önermiştir. (123) Konservatif tedavinin ilk adımı olarak, rölatif istirahat dediğimiz rotator manşet ve subakromiyal bursanın sıkışmasına neden olacak hareketlerden kaçınılması gelir. (124) Bu nedenle özellikle baş seviyesi üzerindeki hareketlerden kaçınılması gerekir. Çoğunlukla, istirahat süresi çok kısadır. Normal koşullarda, ağrıya neden olan enflamasyon 1-2 hafta içerisinde germe hareketlerinin yapılmasına imkân tanıyacak kadar ağrı azalmasını sağlayacak ölçüde kontrol altına alınabilir. Eğer ağrı günlük yaşam aktivitelerini ileri derecede etkiliyorsa bir omuz askısında omuz tam istirahate alınır. Bu dönem esnasında, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar ve subakromiyal

steroid enjeksiyonları enflamasyonun azaltılmasına yardım edebilir. Boker ve Morrison tarafından cerrahi dışı bu tedavi süresinin en az 6-12 ay sürmesi önerilmiştir. (125, 126) Mantone ve arkadaşları ise her bir enjeksiyon en az iki ya da üç ay ara ile gerçekleştirilmek kaydıyla, maksimum üç enjeksiyon tavsiye etmektedir. (116)

Kısa vadede kortikosteroid enjeksiyonları etkili olabilir. (121) Ancak geri dönüşüm için gereken subakromiyal enjeksiyon sayısı tartışmalıdır. (127, 128, 129) Kortikosteroidlerin etkileri konusunda yapılan ilk hayvan çalışmaları aşil tendonu, patellar tendon ve dizde medial kollateral bağ üzerine yoğunlaşmıştı. (37, 130, 41, 38, 40, 131)

Glukokortikoidler suprafizyolojik konsantrasyonlarda akut iltihap olayını ve özellikle kronik iltihap olayını inhibe ederler. İltihap olayı hangi etkene (kimyasal, mekanik) bağlı olursa olsun inhibe edilir. İltihabın erken histolojik belirtileri olan olayları ve geç histolojik belirtilerini oluşturan olayları inhibe ederler. Ancak hastalığın altında yatan ve iltihap reaksiyonunu tetikleyen patolojik olayı etkilemezler. Kronik iltihap olayı üzerinde akut iltihap olayı üzerinde olduğundan daha etkilidirler. (132)

Lokal steroid enjeksiyonu uygulamalarında çok uzun dönem ve yüksek dozda kullanılmadığı sürece sistemik etkileri görülmemektedir. Lokal uygulamaların dokular üzerindeki etkinliği en iyi histopatolojik değerlendirme ile anlaşılır. Yapılan çalışmalar subakromiyal bursa inflamasyonunun sıkışma patogenezinde önemli bir komponent olduğunu ispatlıyor. Blaine ve arkadaşları SDF-1 ve CXCL12 (chemokine (C-X-C motif) ligand 12) gibi inflamatuvar sitokinlerin subakromiyal bursitte arttığını göstermiştir. (29) Kim ve arkadaşları da sık kullanılan potent steroidlerden dekzametazonun bursal hücrelerdeki SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) ekspresyonunu engellediğini, steroidlerin subakromiyal bursit tedavisinde kullanılabileceğinin biyolojik temelini gösterdiklerini, gelecekte de subakromiyal bursada spesifik moleküllerin hedeflenerek yan etkilerin minimuma indirebileceği tedavi stratejileri geliştirilebileceğini söylemiştir. (44) Steroidlerin sistemik kullanımı ile inflamasyonu giderme mekanizması, süre ve doz bağımlı komplikasyonları bilinmektedir. Lokal steroid uygulamasının etkinliği klinik olarak rotator manşet tendiniti ve donmuş omuzda birçok çalışmada gösterilmiştir. (9) Kliniğimizde yapılan

çalışmalarda da lokal steroid uygulamaları ve komplikasyonları ile ilgili değerli bilgiler elde edilmiştir. Metilprednizolon ve betametazonun tekrarlayan lokal enjeksiyonları sonrası rotator manşet üzerinde major tendon hasarına yol açtığı histopatolojik düzeyde inceleme yapılarak gösterilmiştir. (12)

Bu tezin konusu olan çalışmada ise, lokal steroid uygulamalarının özellikle inflamasyon üzerindeki etkinliği, inflame subakromiyal bölgedeki çeşitli sitokinlerin kompleks reaksiyonu, inflamatuvar cevabı incelendi. Bu moleküllerden özellikle vasküler endotelial büyüme faktörü, fibronektin ve transforme edici büyüme faktörü araştırıldı.

nce ratlar üzerinde oluşturulan deneysel model ile subakromiyal bursit oluşturuldu. İyatrojenik olarak indüklenen subakromiyal bursanın, bursit sonrası normal bursal dokudan farklı olarak makrofaj ve inflamatuvar hücrelerin yoğun olarak bulunduğu tespit edildi. Kontrol grubumuzdaki tüm ratlarda oluşturduğumuz iyatrojenik subakromiyal bursit ve inflamatuvar cevap, makroskopik ve histopatolojik olarak ispatlandı. Deneyimizin ikinci kısmında ise, ülkemizde uzun etkisi nedeniyle lokal olarak sık kullanılan triamsinolon asetonid (Kenacort®-A) ve fizyolojik salinin subakromiyal bursa ve yakın ilişkisi nedeniyle supraspinatus tendonun üzerindeki etkilerini yine makroskopik ve histopatolojik olarak araştırdık. Elde edilen spesimenler yine inflamasyon, fibronektin, VEGF ve TGF ile boyanma paternleri baz alınarak incelendi.

VEGF'nin yoğun mitojenik ve anjiogenik aktivitesi Nagashima ve arkadaşları tarafından incelenmişti. (49) zellikle çözünebilir formlar olan VEGF121 ve VEGF165, anjiogenez ve sinoviyal proliferasyonda major rol oynar. (79) Sıkışma sendromu nedeniyle opere edilen hastalarda yapılan bir çalışmada, immunohistokimyasal yöntemlerle anti-CD34 antibody kullanılarak subakromiyal bursal doku incelenmiş; kapiller sayısı, yoğunluğu ve VEGF mRNA ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon rapor edilmişti. Fibronektin ise çoğalan endotel hücreleri tarafından aktif olarak üretilmektedir. (54) Tillander ve arkadaşları da carrageenan ile yapmış olduğu bir çalışmada, iyatrojenik oluşturulmuş subakromiyal bursit sonrası elde edilen tendon spesimenlerinde, artmış fibronektin boyanması saptamıştı. (1) Yapılan hayvan ve insan

çalışmalarında da hasarlı dokuların fibronektin seviyesi kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. (57,61, 63)

Tezimizde, bizden önceki çalışmaların ışığında, subakromiyal carrageenan enjeksiyonu ardından kronik inflamasyonu net bir şekilde oluşturduk. Her iki grupta da immünohistokimyasal boyaların kronik inflamasyonu işaret ettiğini gösterdik. Ancak inflamasyon ve boyanma paternleri üzerinde, kısaca kontrol grubu ve steroid grubu arasında anlamlı farkın oluşmadığını gözledik. Fizyolojik salin enjekte edilen grup ve steroid enjekte edilen grup arasında hem inflamasyon, hem de immünohistokimyasal boyanma paternleri açısından anlamlı bir ilişki kurulamadı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada iyatrojenik subakromiyal bursit oluşturulan ratlarda steroid ile salinin inflamasyon üzerinde aynı etkiye sahip olduğu gösterildi. Ancak insanlarda yapılan birçok klinik uygulamada lokal etkili steroidin hem ağrı palyasyonu hem omuz hareket açıklığı azalmasının giderilmesinde gerek ilaç dışı yöntemler gerek oral medikasyonlara oranla daha üstün olduğu gösterilmiştir. Ratlar üzerinde yapılan deneysel çalışmamızda gerek enjeksiyonun plasebo etkisi, gerekse subjektif ağrı giderilmesi konusunda herhangi bir yol gösterilememiştir. Bu çalışma, lokal steroid enjeksiyonunun bugüne kadar uygulanan doz ve süre konusunda yeni bir zemin hazırlamaktadır. Bundan sonraki süreçte, yapılacak deneysel çalışmalar bir adım öteye götürülerek, ratların yüksek bazal metabolik hızları nedeniyle (133) steroidin lokal etkisinin doz bağımlı ve süre bağımlı olarak araştırılıp, sonuçlar klinik uygulamalara yeniden yön verebilecektir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Bo T, Lennart EF, Elise N, Rolf N: Carrageenan induced subacromial bursitis caused changes in the rat's rotator cuff. *J Ort Res* 19(2001) 441-447
- 2- Hollander JL. The local effects of compound F (hydrocortisone) injected into joints. *Bull Rheum Dis* 1951;2: 3-4
- 3- Bo Tillander, MD, Lennart E. Franz&, MD, PhD, Maria H. Karlsson, and Rolf Norlin, MD, PhD, Effect of steroid injections on the rotator cuff: An experimental study in rats. *J.Shoulder Elbow Surg* 1999;3: 271-274
- 4- Wiggins ME, Fadale PD, Ehrlic MG, Walsh WR. Effects of local injection of corticosteroids on the healing of ligaments. *J Bone Surg* 1995;77 (supplA):1682-1691
- 5- Kennedy JC, Willis RB. The effects of local steroid injections on tendons: a biomechanical and microscopic correlative study. *Am J Sports Med* 1976;4:11-21
- 6- Stannard JP, Bucknell AL Rupture of the triceps tendon associated with steroid injections. *Am J Sports Med* 1993;21 :482-5.
- 7- Fitzgerald BT, Hofmeister EP, Fan RA, Thompson MA. Delayed flexor digitorum superficialis and profundus ruptures in a trigger finger after a steroid injection: a case report. *J Hand Surg Am.* 2005 May;30(3):479-82
- 8- Noyes FR, Grood ES, Nusbaum NS, Cooper S. Effect of intraarticular corticosteroids on ligament properties. A biomechanical and histological study in rhesus knees. *Clin Orthop* 1977;123: 197-209
- 9- Arroll B, Goodyear-Smith F: Corticosteroid Injections for painful shoulder. *Br J Gen Pract* 2005 mar; 55(512): 224-8
- 10- Mankin HJ, Conger KA. The effect of cortisol on articular cartilage of rabbits. I. Effect of a single dose of cortisol on glycine-C-14 incorporation. *Lab Invest* 1966;15:794-800
- 11- Sedgwick AD, Sin YM, Moore AR, Edwards JCW. Effects of local administration of hydrocortisone on cartilage degradation in vivo. *Ann Rheum Dis* 1984;43:418-20

- 12- Akpınar S, Hersekli MA, Demirörs H, Tandoğan RN, Kayaselçuk F: Effects of methylprednisolone and beamethasone injections on the rotator cuff: an experimental study in rats. *Adv Ther.* 2002 Jul-Aug;19(4):194-201
- 13- Norlin R, Hoe-Hansen C, Oquist G, Hildebrand C. Shoulder region of the rat: anatomy and fiber composition of some suprascapular nerve branches. *Anat Rec.* 1994 Jul;239(3):332-42
- 14- Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg.* 1996 Sep-Oct;5(5):383-92
- 15- Dixon, P.S.and Irvine, L.M. Introduction, Nemaliales, Gigartinales. *British Museum (Natural History).* 1977 *Seaweeds of the British Isles. Vol. 1 Rhodophyta Part 1 London. ISBN 0 565 00781 5*
- 16- Gardner DL, Production of arthritis in the rabbit by the local injection of the mucopolysaccharide caragheenin. *Ann Rheum Dis.* 1960 Dec;19:369-76
- 17- Di Rosa M, Giroud JP, Willoughby DA. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine .*J Pathol.* 1971 May;104(1):15-29
- 18- Di Rosa M.Biological properties of carrageenan.*J Pharm Pharmacol.* 1972 Feb;24(2):89-102
- 19- Gillard GC, Lowther DA. Carrageenin-induced arthritis.Effect of intraarticular injection of carrageenin on the synthesis of proteoglycan in articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 1976 Sep-Oct;19(5):918-22
- 20- Benitz KF, Hall LM. Local morphological response following a single subcutaneous injection of carrageenin in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1959 Nov;102: 442-5
- 21- Sakai H, Fujita K, Sakai Y, Mizuno K. Immunolocalization of cytokines and growth factors in subacromial bursa of rotator cuff tear patients *Kobe J. Med. Sci.* 47, 25/34, February 2001
- 22- Jarjavay JF: Sur la luxation du tendon de la longue portion du muscle biceps humeral; sur la luxation des tendons des muscles peroniers latTMraux. *Gazette Hebdomadaire de MTMdecine et de Chir* 21:325, 1867
- 23- Heineke: *Die Anatomie und Pathologie der Schleimbeutel und Sehnenscheiden.* Erlangen, 1868

- 24- Codman EA. The Shoulder. Rupture of the Supraspinatus Tendon and Other Lesions In or About the Subacromial Bursa. Boston, Massachusetts: Thomas Todd Company, 1934: 65-215
- 25- Strizak AM, Torrance LD, Jackson DW et al, Subacromial bursography, J Bone Joint Surg (1982) 64A: 196-201.
- 26- Frediani B, Falsetti P, Storri L, et al. 2002. Evidence for synovitis in active polymyalgia rheumatica: sonographic study in a large series of patients. J Rheumatol 29:123–130.
- 27- Ide K, Shirai Y, Ito H, Ito H. Sensory nerve supply in the human subacromial bursa. J Shoulder Elbow Surg. 1996 Sep-Oct;5(5):371-82.
- 28- Soifer TB, Levy HJ, Soifer FM, Kleinbart F, Vigorita V, Bryk E. Neurohistology of the subacromial space. (Arthroscopy. 1996 Apr;12(2):182-6.
- 29- Blaine TA, Kim YS, Voloshin I, Chen D, Murakami K, Chang SS, Winchester R, Lee FY, O'keefe RJ, Bigliani LU. The molecular pathophysiology of subacromial bursitis in rotator cuff disease. J Shoulder Elbow Surg. 2005 Jan-Feb;14(1 Suppl S):84S-89S.)
- 30- (Berger RG, Yount WJ. Immediate steroid flare from intraarticular triamcinolone hexacetonide injection: case report and review of the literature. Arthritis Rheum 1990;33:1284–6.
- 31- Eymontt MJ, Gordon GV, Schumacher HR, Hansell JR. The effects on synovial permeability and synovial fluid leucocyte counts in symptomatic osteoarthritis after intraarticular corticosteroid administration. J Rheumatol 1982;9:198–203.
- 32- Laroche M, Artlet J, Mazieres B. Osteonecrosis of the femoral and humeral heads after intraarticular corticosteroid injections. J Rheumatol 1990;17:549–51.
- 33- McCarty D, McCarthy G, Carrera G. Intraarticular corticosteroids possibly leading to local osteonecrosis and marrow fat induced synovitis. J Rheumatol 1991;18:1091–4.
- 34- Sparling M, Malleson PN, Wood B, Petty RC. Radiographic follow-up of joints injected with triamcinolone hexacetonide for the management of childhood arthritis. Arthritis Rheum 1990;33:821–6.
- 35- Kleinman M, Gross AE. Achilles tendon rupture following steroid injection. Report of three cases. J Bone Joint Surg Am. 1983;65:1345-7.

- 36- Gill SS, Gelbke MK, Mattson SL, Anderson MW, Hurwitz SR. Fluoroscopically guided low-volume peritendinous corticosteroid injection for Achilles tendinopathy. A safety study. *J Bone Joint Surg Am.* 2004;86:802-6.
- 37- Balasubramaniam P, Prathap K. The effect of injection of hydrocortisone into rabbit calcaneal tendons. *J Bone Joint Surg Br.* 1972;54:729-34.
- 38- Kapetanios G. The effect of the local corticosteroids on the healing and biomechanical properties of the partially injured tendon. *Clin Orthop Relat Res.* 1982;163:170-9.
- 39- Oxlund H. The influence of a local injection of cortisol on the mechanical properties of tendons and ligaments and the indirect effect on skin. *Acta Orthop Scand.* 1980;51:231-8.
- 40- Wiggins ME, Fadale PD, Barrach H, Ehrlich MG and Walsh WR. Healing Characteristics of a Type I Collagenous Structure Treated with Corticosteroids. *Am J Sports Med* 1994; 22: 279-288.
- 41- Matthews LS, Sonstegard DA, Phelps DB. A biomechanical study of rabbit patellar tendon: effects of steroid injection. *J Sports Med.* 1974;2:349-57.
- 42- Phelps D, Sonstegard DA, Matthews LS. Corticosteroid injection effects on the biomechanical properties of rabbit patellar tendons. *Clin Orthop Relat Res.* 1974;100:345-8.
- 43- Shrier I, Matheson GO, Kohl HW 3rd. Achilles tendonitis: are corticosteroid injections useful or harmful? *Clin J Sport Med.* 1996;6:245-50.
- 44- Kim YS, Bigliani LU, Fujisawa M, Murakami K, Chang SS, Lee HJ, Lee FY, Blaine TA. Stromal Cell-Derived Factor 1 (SDF-1, CXCL12) Is Increased in Subacromial Bursitis and Downregulated by Steroid and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Agents *J Orthop Res.* 2006 Aug;24(8):1756-64.
- 45- Rowe CR. Tendinitis, bursitis impingement, snapping scapula. and calcific tendinitis. In: Rowe CR, editor. *The shoulder.* New York: Churchill Livingstone; 1988. p. 105--29.

- 46- Fava RA, Olsen NJ, Spencer-Green G, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, Jackman RW, Senger DR, Dvorak HF, Brown LF. Vascular permeability factor I endothelial growth factor (VPFIVEGF): accumulation and expression in human synovial fluids and rheumatoid synovial tissue. *J Exp Med* 1994;180:341-6.
- 47- Jackson JR, Minton JAL, Ho ML, Wei N, Winkler JD. Expression of vascular-endothelial growth factor in synovial fibroblasts is induced by hypoxia and interleukin I. *J Rheumatol* 1997;24:1253-9.
- 48- Koch AE, Hal-low LA, Haines GK, Amento EP, Unemori EN, Wong WL, Pope RM, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1994;152:4149-56.
- 49- Nagashima M, Yoshino S, Ishiwata T, Asano G. Role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1995;22:1624-30.
- 50- Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, Hla T. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: A potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995;372:83-7.
- 51- Esch F, Baird A, Ling N, Ueno N, Hill F, Denoroy L, Klepper R, Gospodarowicz D, Bihlen P, Guillemin R. Primary structure of bovine pituitary basic fibroblast growth factor (FGF) and comparison with the amino-terminal sequence of bovine brain acidic FGF. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6507-11.
- 52- Thomas KA, Rios-Candelore M, Gimenez-Gallego G, DiSalvo J, Bennett C, Rodkey J, Fitzpatrick S. Pure brain-derived acidic fibroblast growth factor is a potent angiogenic vascular endothelial cell mitogen with sequence homology to interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6409-13.
- 53- Ishikawa F, Miyazono K, Hellman U, Drexler H, Wernstedt C, Hagiwara K, Usuki K, Takaku F, Risau W, Heldin CH. Identification of angiogenic activity and the cloning and expression of platelet-derived endothelial cell growth factor. *Nature* 1989;338:557-62.
- 54- Mitchell RN and Cotran RS. Repair: Cell Regeneration, Fibrosis, and Wound Healing. In: Cotran RS, Kumar V and Collins T, editors. *Robins Pathologic basis of disease*. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company, 1992: 47-60.

- 55- Grinnell F, Billingham RE and Burgess L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *J Dermatol* 1981; 76: 181-189.
- 56- Grinnell F. Fibronectin and wound healing. *J Cell Biochem* 1984; 26: 107-116.
- 57- Gelberman RH, Steinberg D, Amiel D and Akeson W. Fibroblast chemotaxis after tendon repair. *J Hand Surg* 1991; 16A: 686-693.
- 58- Hedelin H, Lundholm K, Teger-Nilsson A-C, Peterson H-I and Pettersson S. Influence of Local Fibrin Deposition on Granulation Tissue Formation. *Eur surg Res* 1983; 15: 312-316.
- 59- Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest.* 1980 Jul;43(1):47-51.
- 60- Holund B, Clemmensen I, Junker P, Lyon H. Fibronectin in experimental granulation tissue. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A].* 1982 May;90(3):159-65.
- 61- Williams IF, McCullagh KG, Silver IA. The distribution of types I and III collagen and fibronectin in the healing equine tendon. *Connect Tissue Res.* 1984;12(3-4):211-27.
- 62- Kvist MH, Lehto MUK, Jozsa L, Jarvinen M, Kvist HT. Chronic Achilles paratenonitis. An immunohistologic study of fibronectin and fibrinogen. *Am J Sports Med* 1988;16:616-23.
- 63- Lehto M, Jozsa L, Kvist M, Jarvinen M, Bahr BJ, Reffy A. Fibronectin in the ruptured human achilles tendon and its paratenon. *Ann Chir* 1990;79:72-7.
- 64- Trippel SB. Growth factor actions on articular cartilage. *J Rheumatol Suppl.* 43:129-32, 1995.
- 65- Border WA, Noble NA. Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331:1286-1292.
- 66- Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type β transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2345-2349.
- 67- Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of transforming growth factor β prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology* 2000;32:247-255.

- 68- Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Control of scarring in adult wounds by neutralizing antibody to transforming growth factor- β . *Lancet* 1992;339:213-214.
- 69- Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralising antibody to TGF-beta 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci* 1994;107:1137-1157.
- 70- Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, Longaker MT, Chang J. Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production. *J Hand Surg [Am]*. 2002 Jul;27(4):615-20.
- 71- Berglund M, Reno C, Hart DA, Wiig M. Patterns of mRNA expression for matrix molecules and growth factors in flexor tendon injury: differences in the regulation between tendon and tendon sheath. *J Hand Surg [Am]*. 2006 Oct;31(8):1279-87.
- 72- Kashiwagi K, Mochizuki Y, Yasunaga Y, Ishida O, Deie M, Ochi M. Effects of transforming growth factor-beta 1 on the early stages of healing of the Achilles tendon in a rat model. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2004;38(4):193-7.
- 73- Brandes ME, Allen JB, Ogawa Y, Wahl SM: TGF-[beta]1 suppresses leukocyte recruitment and synovial inflammation in experimental arthritis. *J Clin Invest* 87:1108–1113, 1991.
- 74- Nietfeld JJ, Huber-Bruning O, Bylsma JWJ: Cytokines and Proteoglycans. In: Jolles P (ed). *Proteoglycans*. Berlin, Birkhauser 215–242, 1994.
- 75- Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW. The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol*. 1991 Dec;5(12):1806-14.
- 76- Poltorak Z, Cohen T, Sivan R, Kandelis Y, Spira G, Vlodaysky I, Keshet E, Neufeld G. VEGF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix. *J Biol Chem* 1997;272:7151 -8.
- 77- Swiontkowski MF, Iannotti JP, Boulas HJ. Intraoperative assessment of rotator cuff vascularity using laser doppler flowmetry.
- 78- Chansky HA, Iannotti JP. The vascularity of rotator cuff. *Clin Sports Med* 1991;10:807-22.

- 79- Yanagisawa K, Hamada K, Gotoh M, Tokunaga T, Oshika Y, Tomisawa M, Lee YH, Handa A, Kijima H, Yamazaki H, Nakamura M, Ueyama Y, Tamaoki N, Fukuda H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the subacromial bursa is increased in patients with impingement syndrome. *J Orthop Res.* 2001 May;19(3):448-55.
- 80- Handa A, Gotoh M, Hamada K, Yanagisawa K, Yamazaki H, Nakamura M, Ueyama Y, Mochida J, Fukuda H. Vascular endothelial growth factor 121 and 165 in the subacromial bursa are involved in shoulder joint contracture in type II diabetics with rotator cuff disease. *Journal of Orthopaedic Research* 21 (2003) 1138-1144.
- 81- Oshika Y, Nakamura M, Tokunaga T, Ozeki Y, Fukushima Y, Hatanaka H, Abe Y, Yamazaki H, Kijima H, Tamaoki N, Ueyama Y. Expression of cell-associated isoform of vascular endothelial growth factor 189 and its prognostic relevance in nonsmall cell lung cancer. *Int J Oncol* 1998;12:5414.
- 82- Tokunaga T, Kijima H, Oshika Y, Fukushima Y, Abe Y, Ohnishi Y, Yamazaki H, Tsuchida T, Makuuchi H, Tamaoki N, Ueyama Y, Nakamura M. Aberrant isoforms of vascular endothelial growth factor 189 expression is correlated with xenotransplantability of human esophageal cancer. *Oncol Reports* 1998;5:1 115-8.
- 83- Tokunaga T, Nakamura M, Oshika Y, Abe Y, Ozeki Y, Fukushima Y, Hatanaka H, Sadahiro S, Kijima H, Tsuchida T, Yamazaki H, Tamaoki N, Ueyama Y. Thrombospondin expression is correlated with inhibition of angiogenesis and metastasis of colon cancer. *Br J Cancer* 1999;79:353-9.
- 84- Tokunaga T, Nakamura M, Oshika Y, Ohnishi Y, Ueyama Y. Is xenotransplantability of human colon cancers in SCID mice affected by angiogenic factors. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:400-1.
- 85- Tokunaga T, Oshika Y, Abe K, Ozeki Y, Sadahiro S, Kijima H, Tsuchida T, Yamazaki H, Ueyama Y, Tamaoki N, Nakamura M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA isoform expression pattern is correlated with liver metastasis and poor prognosis in colon cancer. *Br J Cancer* 1998;77:998-1002.
- 86- Tomisawa M, Tokunaga T, Oshika Y, Tsuchida T, Fukushima Y, Sato H, Kijima H, Yamazaki H, Ueyama Y, Tamaoki N, Nakamura M. Expression pattern of vascular endothelial growth factor isoform is closely correlated with tumour stage and vascularisation in renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1999;35: 133-7.

- 87- Merdol F.: Subakromiyal sıkışma sendromunun konservatif tedavisinde subakromiyal aralığa kortikosteroid enjeksiyonu ile ultrasonun etkinliğinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1999.
- 88- Akman Ş.: Subakromiyal Sıkışma Sendromları ve Cerrahi Tedavisi Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniv. İstanbul Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD, 1994
- 89- Akman Ş., Demirhan M.: Subakromiyal sıkışma sendromunda konservatif tedavi metodu ve sonuçlarımız. Acta Orthop.Traumatol. Turc. Cilt 27:239-242, 1993.
- 90- Tillander B., The supraspinatus tendon, clinical and histopathological aspects, Linköping, Sweden 2001: 16-17.
- 91- Neviaser RJ and Neviaser TJ. Observations on Impingement. Clin Orthop 1990; 254: 60-63.
- 92- Hyvönen P, Lohi S and Jalovaara P. Open acromioplasty does not prevent the progression of an impingement syndrome to a tear. J Bone Joint Surg 1998; 80-B: 813-816.
- 93- Sano H, Ishii H, Trudel G and Uhthoff HK. Histologic evidence of degeneration at the insertion of 3 rotator cuff tendons: A comparative study with human cadaveric shoulders. J Shoulder Elbow Surg 1999; 8: 574-579.
- 94- Neer CS. Impingement lesions. Clin Orthop Rel Res 1983; 173: 70-77.
- 95- Neer CS. Cuff tears, biceps lesions and impingement. In: Charles S Neer II, editor. Shoulder Reconstruction. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company, 1990: 41-142.
- 96- Fu F.H, Harner C.D., Klein A.H.: Shoulder impingement syndrome. Clin.Orthop. R. Research. Number 269, August, 1991.
- 97- Wolin P.M, Tarbet J.A.: Rotator cuff injury: Addressing overhead overuse. The Physician and Sportsmedicine. Vol 25, No 6, 1997.
- 98- Uri DS. MR imaging of shoulder impingement and rotator cuff disease. Radiological Clinics of North America 1997; 35: 77-96.

- 99- Budoff JE, Nirschl RP and Guidi EJ. Current Concepts Review. Débridement of Partial-Thickness Tears of the Rotator Cuff without Acromioplasty. J Bone Joint Surg 1998; 80-A: 733-748.
- 100- Hatipoğlu İ. : Glukokortikoidler In: Tuna N.(Ed.) Romatizmal Hastalıklar 3.Baskı, Hacettepe Taş Kitapçılık- Ankara 1994. Sayfa: 201-212.
- 101- Hatipoğlu İ.: Glukokortikoidler In: Tuna N.(Ed.) Romatizmal Hastalıklar 3.Baskı, Hacettepe Taş Kitapçılık- Ankara 1994. Sayfa:201-212,Kayaalp S.O.: Kortikosteroidler, kortikosteroid antagonistleri ve ACTH In: Tıbbi Farmakoloji Dördüncü Baskı, Ankara 1989.Cilt 3 Sayfa:2421-2471.
- 102- Hubner G, Brauchle M, Smola H, et al. 1996. Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucocorticoid-treated mice. Cytokine 8:548–556.
- 103- Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, et al. 1998. Increased substance P in subacromial bursa and shoulder pain in rotator cuff diseases. J Orthop Res 16:618–621.
- 104- Yasuda M, Ono M, Naono T, et al. 1989. Multiple rheumatoid bursal cysts. J Rheumatol 16:986–988.
- 105- Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, et al. 2001. Interleukin-1 induced subacromial synovitis and shoulder pain in rotator cuff diseases. Rheumatology (Oxford) 40:995–1001.
- 106- Santavirta S, Kontinen YT, Antti-Poika I, et al. 1992. Inflammation of the subacromial bursa in chronic shoulder pain. Arch Orthop Trauma Surg 111:336–340.
- 107- Szomor ZL, Wang MX, Kruller A, et al. 2001. Differential expression of cytokines and nitric oxide synthase isoforms in human rotator cuff bursae. Ann Rheum Dis 60:431–432.
- 108- Curran J.F.Ellman M.H.: Rheumatologic aspects of painful conditions affecting the shoulder. Clin.Orthop. 173:27-37, 1983.
- 109- Bird H.A.: Intra-articular and intralesional therapy. In:Klippel J.H., Dieppe P.A.(Ed.) Rheumatology. Second Edition, Mosby-Year Book, 1998 . Volume 1 , Section 3:7.1-7.4.
- 110- Wilder R.L.: Corticosteroids In:Koopman W.J.(Ed.) Arthritis and Allied Condition 13.edition ,Williams and Wilkins - Baltimore, 1996. Volume1 Section3 Chap.37:731-750.

- 111- Berker E.:Yerel kortikosteroid tedavisi.In: Tuna N.(Ed) Romatizmal Hastalıklar 3.baskı Hacettepe Taş Kitapçılık-Ankara 1994, sayfa 265-280.
- 112- Blair B. Rokito A.S. :Efficacy of injections of corticosteroids for subacromial impingement syndrome. J.Bone and Joint Surg. 78-A(11): 1685- 1689, 1996.
- 113- Wrenn RN, Goldner JL and Markee JL. An experimental study of the effect of cortisone on the healing process and tensile strength of tendons. J Bone Joint Surg 1954; 36A: 588-601.
- 114- Krahl H and Langhoff J. Degenerative Sehnenveränderungen nach lokaler Kortikoidanwendung. Z Orthop 1971; 109: 501-511.
- 115- Campbell R.B., Wiggins M.E.: Influence of steroid injection on ligament healing in the rat. Clin.Orthop. 332:242-253, 1996.
- 116- Mantone J.K, Burkhead W.Z., Noonan J. : Nonoperative Treatment of Rotator Cuff Tears. Orthop. Clin. North America. Vol 31, Number 2, April 2000.
- 117- Petri M., Dobrow R. : Randomized ,double-blind, placebo-controlled study of the treatment of the painful shoulder. Arthritis and Rheumatism 30(9):1040-1045, 1987.
- 118- Owen D.S.:Aspiration and injection of joints and soft tissues In:Kelly W.N., Haris E.,Ruddy S., Siedge C.B.(Ed) Textbook of Rheumatology W.B.Saunders Company Philadelphia Chap 35:545-561, 1993.
- 119- Kozin F.:Painful shoulder and reflex sympathetic dystrophy syndrome. In:Kopman W.(Ed) Arthritis and Allied Conditions 13.Edition ,1996Volum 2,Chap.101:1887-1922.
- 120- Anthony S. Wei, John J. Callaci, Dainius Juknelis, Guido Marra, Pietro Tonino, Kevin B. Freedman and Frederick,H. Wezeman. The Effect of Corticosteroid on Collagen Expression in Injured Rotator Cuff Tendon. J. Bone Joint Surg. Am. 88:1331-1338, 2006.
- 121- Rockwood Jr CA, Lyons FR. Shoulder impingement syndrome: Diagnosis, radiographic evaluation, and treatment with a modified Neer acromioplasty. J Bone Joint Surg A 1993;75:409-24.

- 122- Benjamin B, Rokito AS, Cuomo F, Jarolem K and Zuckerman JD. Efficacy of Injections of Corticosteroids for Subacromial Impingement Syndrome. *J Bone Joint Surg* 1996; 78-A:1685-1689.
- 123- Neer CS. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder. A preliminary report. *J Bone Joint Surg* 1972; 54A: 41-50.
- 124- McLaughlin HL. Lesions of the musculotendinous cuff of the shoulder. I. The exposure and treatment of tears with retraction. *J Bone Joint Surg* 1944; 26A: 31-51
- 125- Ellman H.: Diagnosis and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin.Orthop.* 254:64-74, 1990
- 126- Bokor DJ, Hawkins RJ, Huckell GH and Angelo RL. Results of nonoperative management of full-thickness tears of the rotator cuff. *Clin Orthop* 1993; 294: 103-110.
- 127- Morrison DS, Frogameni AD and Woodworth P. Non-operative treatment of subacromial impingement syndrome. *J Bone Joint Surg* 1997; 79A: 732-737
- 128- Vecchio PC, Hazleman BL and King RH. A double-blind trial comparing subacromial methylprednisolone and lignocaine in acute rotator cuff tendinitis. *Br J Rheumatolog* 1993;32: 743-745.
- 129- Withrington RH, Girgis FL and Seifert MH. A Placebo-controlled Trial of Steroid Injections in the Treatment of Supraspinatus Tendonitis. *Scand J Rheumatology* 1985; 14: 76-78.
- 130- Dalton SE. The conservative management of rotator cuff disorders. *Br J Rheumatol* 1994; 33:663-667.
- 131- Unverferth LJ and Olix ML. The effect of the local steroid injections on tendon. *J Sports Med* 1973; 1: 31-37. Vecchio PC, Hazleman
- 132- Walsh WR, Wiggins ME, Fadale PD and Ehrlich MG. Effects of a delayed steroid injection on ligament healing using a rabbit medial collateral ligament model. *Biomaterials* 1995; 16:905-910.
- 133- S.O. Kayaalp, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. *Kortikosteroidler ve ACTH* 2000; 2.cilt, 9. baskı, 2000:1301.
- 134- West GB, Brown JH and Enquist BJ. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* 1997; 4; 276(5309): 122-126.