



Sıçan Aşil tendonunda yaşa bağlı değişikliklerin ışık mikroskopunda Sirius kırmızı tekniği ile incelenmesi

Age-related changes in light microscopy with Sirius red technique in rat Achilles tendon

Hale Öktem,¹ Engin Çalgüner,¹ Deniz Erdoğan,² Çiğdem Elmas,² Rabet Gözil,¹
Dural Kadioğlu,¹ Güleser Göktaş²

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Anatomi Anabilim Dalı, ²Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, sağlam sıçan Aşil tendonundaki yaşa bağlı oluşan morfolojik değişiklikler incelendi.

Gereç ve yöntemler: İki-üç haftalık, altı aylık ve 12 aylık grupların her birinden onar adet olmak üzere, toplam 30 adet Wistar albino cinsi sıçan Aşil tendonu Sirius kırmızı boyama tekniği ile foto-ışık mikroskopta değerlendirildi.

Bulgular: Sirius kırmızı ışık mikroskopik incelemesinde, yaşın artmasıyla yoğun kırmızı renkte boyanan kollajen liflerin ondülasyonunda azalma, tenosit çekirdeklerinde yuvarlaklaşma, ara madde ve kan damarı artışı, tenosit sayısında istatistiksel olarak da anlamlı azalma olduğu görüldü.

Sonuç: Spontan Aşil tendon rüptürünün erişkin yaş grubunda daha sık görülme nedenine Sirius kırmızı ışık mikroskopik tekniği kullanılarak, açıklık getirilmeye çalışıldı. Bu yaş grubunda başlayan dejeneratif değişiklikler sonucu, fonksiyonel olarak tendonun esnekliği azalmaktadır.

Anahtar sözcükler: Aşil tendonu/yaralanma; yaşa bağlı değişiklikler; sıçan; Sirius kırmızı.

Objectives: In this study, age-related morphological changes in intact rat Achilles tendon was investigated.

Materials and methods: Thirty Wistar albino rats of 2-3 weeks, six months and 12 months old groups 10 animal in each group were examined with Sirius red light microscobic staining.

Results: The Sirius red light microscobic staining revealed that red stained collagen fibers have a decreased waviness with more rounded appearance of tenocyte nuclei, extracellular matrix along a increased vascularity and the number of tenocytes decreased with age was statistically meaningful.

Conclusion: The possible causes of the spontaneously Achilles tendon rupture in adult ages group was investigated with Sirius red light microscopic technique. In this age group, initiation of the degenerative changes are decreasing the elasticity thus function of this tendon.

Key words: Achilles tendon/injuries; age-related changes; rats; Sirius red.

M. gastrocnemius ile m. soleus kaslarının tendonlarının birleşmesi ile oluşan tendo calcaneus, (Aşil) tuber calcanei'nin arka alt kısmına tutunarak sonlanır.^[1] İnsanda tendon yırtılmaları, hareket ve stabilite arasındaki dengenin bozulması ile oluşur. Spora bağlı tendon yaralanmalarında son yıllarda artış görülmektedir.^[2,3] Aşil tendonu vücudumuzdaki en güçlü tendon olmasına karşın; çok yük-

lenmeye, mekanik etkilere, çeşitli sistemik hastalıklara (sistemik lupus eritematosus, alkaptonüri), dışarıdan alınan çeşitli ilaçlara (fluorokinolonlar, androstenodiol, kortikosteroid) ve yaşa bağlı olarak rüptür riski en yüksek olan tendondur.^[2-8] Yaş, diğer tendonlara oranla Aşil tendonu lezyonlarında önemli bir hazırlayıcı faktördür.^[4] Tendon yaşlanması üzerine insanda ve hayvanda birçok

• Geliş tarihi: 09.12.2009 Kabul tarihi: 15.01.2010

• İletişim adresi: Dr. Hale Öktem, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 06510 Beşevler, Ankara, Türkiye.
Tel: 0312 - 202 47 11 Faks: 0312 - 212 46 47 e-posta: hoktem@gazi.edu.tr

çalışma yapılmıştır. Yaşlanma ile kollajen liflerde değişiklikler olur. Deri, tendon, kemik ve eklem yapıları bozularak esneklik azalır. Antrenman ile kazanılan performansla bu olumsuz etkiler azaltılabilir.^[9-13]

Sıçanlarda Aşil tendon boyutu/vücut ağırlığı oranı, insandakinden çok daha büyüktür.^[14] Bu nedenle araştırmamızda da sıçan kullanıldı. Yapılan çalışmalara göre, insanlarda spontan Aşil tendon rüptürü çoğunlukla 30-45 yaşları arasında görülür. Özellikle erişkin yaş grubu spontan tendon yırtılmaları; kollajen fibril sayısındaki değişiklikler, kollajen tipi ve hücrelerin yapısındaki farklılıklar nedeniyle^[3,5,9] olmaktadır. Sıklıkla sporcularda görülen bu durum sakatlanmalara, performans düşüklüğüne ve spor hayatının sonlanmasına neden olabilir. Bu çalışmada, sağlam sıçan Aşil tendonunda yaşa bağlı oluşan histolojik değişiklikler ve bu değişikliklerin yaş gruplarına göre dağılımları ışık mikroskobunda incelendi. Amacımız; erişkin yaş grubunda spontan Aşil tendon rüptürünün daha sık görülme nedenine, histolojik olarak açıklık getirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

İki-üç haftalık (prepubertal), altı aylık (ergin) ve 12 aylık (geç ergin) üç grup oluşturuldu. Her grupta onar adet olmak üzere toplam 30 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışmamız için gerekli olan etik kurul kararı (sayı: 117-19495 ve 91-14055), Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan alındı ve GÜ Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nde yapıldı. Alınan dokular ışık mikroskobik çalışma için %10'luk formaldehit solüsyonunda 72 saat tespit edildikten sonra, alışılmış takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Kesitler Fouchet solüsyonunda beş dakika ve distile sudan geçirildikten sonra Celestine mavisinde üç dakika bekletildi. Yıkama işleminden sonra hematoksilene alınan

kesitler, beş dakika sonra hazırlanan Sirius kırmızısı solüsyonunda 20 dakika bekletildi. Kesitler alkol serilerinden geçirilerek, entellenla kapatıldıktan sonra bilgisayar donanımlı, kamera ataçmanlı foto-ışık mikroskopta (DM 4000 B, Leica, Wetzlar, Germany, DFC280 Plus camera, Leica, Wetzlar, Germany) fotoğraflanarak değerlendirildi.

İstatistiksel yöntem

İki-üç haftalık, altı aylık, 12 aylık gruplara ait tenosit sayılarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri Tablo I'de verilmiştir (Şekil 1a, b). Tüm yaş gruplarına ait Aşil tendon kesitlerinden pikrik asit-Sirius kırmızısı ile yapılan ışık mikroskobik boyamalarda her bir camda x400 büyültmede on alan seçilerek tenosit çekirdekleri sayıldı. Çalışmada, Kruskal-Wallis H testi uygulandı. Hangi gruptaki tenosit sayısının fazla olduğunu belirlemek için Scheffe testi (çoklu karşılaştırmalar) yapıldı (Tablo II).

BULGULAR

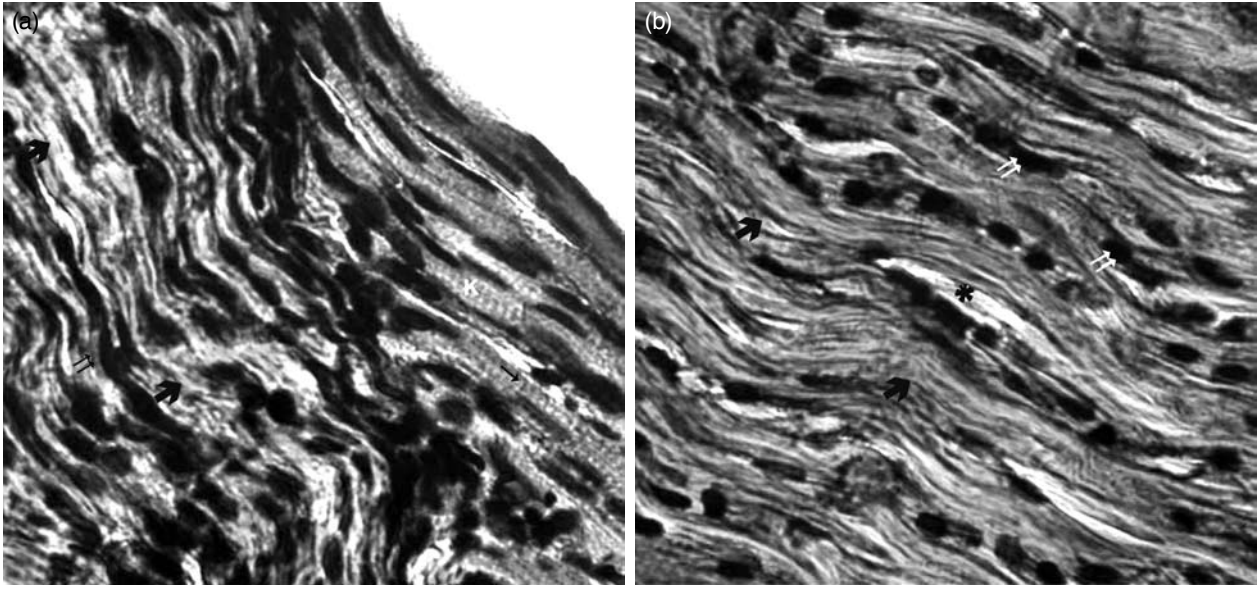
Pikrik asit-Sirius kırmızısı boyamasında, 2-3 haftalık grupta tendonlardaki kollajen liflerin yoğun kırmızı renkte, birbirine koştur dalgalanmış şekilde seyrettiği ve aralarında iç biçimli tenositler olduğu görüldü. Tenosit çekirdeklerinin kollajen liflere koştur olarak yoğun boyanmaları belirgindi. (Şekil 1a, b). Tendon-kas kavuşma noktalarında kasın yeşil, kollajen liflerin sarımsı kırmızı boyandığı, çekirdeklerin çok daha yuvarlaklaştığı ve birbirine karıştığı izleniyordu. Kas lifinde enine çizgilenmeler ve çekirdeklerin periferik yerleşimli oldukları gözlemlendi (Şekil 1a). Kollajen lifler arasında ara madde çok dar alanlarda dağılmıştı (Şekil 1b). Altı aylık grupta, Aşil tendonunun boyamalarında tendona ait kollajen liflerde ondülasyonun 2-3 haftalık gruba karşın daha az olduğu ilgi çekiyordu. Tenositlerin yer yer iç şeklinde, yer yer de daha ovalimsi yapıda olduğu gözleniyordu (Şekil 2a, b). Kas ve kas-tendon bağlantı bölgesinde yine çekirdeklerin son derece fazla olduğu ve

TABLO I

Her bir grubun tenosit sayıları bakımından istatistiksel olarak genel analizi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ort.±SS
2-3 haftalık	40	97.00	126.00	111.1±6.3
6 aylık	40	22.00	75.00	45.8±17.2
12 aylık	40	10.00	27.00	18.4±5.1

Ort.±SS: Ortalama±standart sapma.



Şekil 1. İki-üç haftalık grup; (a) dalgalanma gösteren kollagen lifler (➔), tenositler (⇌), kas (K) dokusundaki çizgilenme (➔) görülüyor (Sirius kırmızısı-Pikrik asit x 400), (b) dalgalanma gösteren kollagen lifler (➔), tenositler (⇌), ara bağ dokusu (*) ayırt ediliyor (Sirius kırmızısı-Pikrik asit x 400).

yuvarlak şekilli olarak devamlılık gösterdiği ayırt ediliyordu. Kas lifinde enine çizgiler ve periferde yerleşik çekirdekler belirgindi (Şekil 2a). Bu grupta 2-3 haftalık gruba karşın kollajen liflerin yer yer açılması, ara maddenin artması ve çekirdeklerin çoğunlukla bir sıra halinde bir araya gelmesi ilgi çekiciydi (Şekil 2b). On iki aylık grupta ise pikrik asit-Sirius kırmızısı boyamasında tenositlerin çekirdeklerinin diğer gruplara karşı daha az ve çoğunlukla da oval şekilli ve yan yana yerleştikleri dikkat çekiyordu (Şekil 3a-c). Kas lifi ile tendonunun birleşme bölgesinde çekirdekler yoğun ve kas lifleri arasında bağ dokusu ara madde artışı ilgi çekiciydi (Şekil 3a). Yine 12 aylık grupta kollajen lifler arasında açılmış bölgelerde kan damarları artmıştı (Şekil 3c).

İstatiksel bulgular

Kruskal-Wallis H testine göre; tenosit sayısı bakımından anlamlı farklılık bulundu ($p<0.05$). Scheffe testinde gruplar, ikili gruplar şeklinde birbirleri ile karşılaştırıldı ve P değerleri hesaplandı, sonuç olarak;

İki-üç haftalık gruptaki tenosit sayısı, altı aylık gruptaki tenosit sayısına göre anlamlı olarak daha fazla bulundu ($p<0.05$).

İki-üç haftalık gruptaki tenosit sayısı, 12 aylık gruptaki tenosit sayısına göre anlamlı olarak daha fazla bulundu ($p<0.05$).

Altı aylık gruptaki tenosit sayısı, 12 aylık gruptaki tenosit sayısına göre anlamlı olarak daha fazla bulundu ($p<0.05$; Tablo 2).

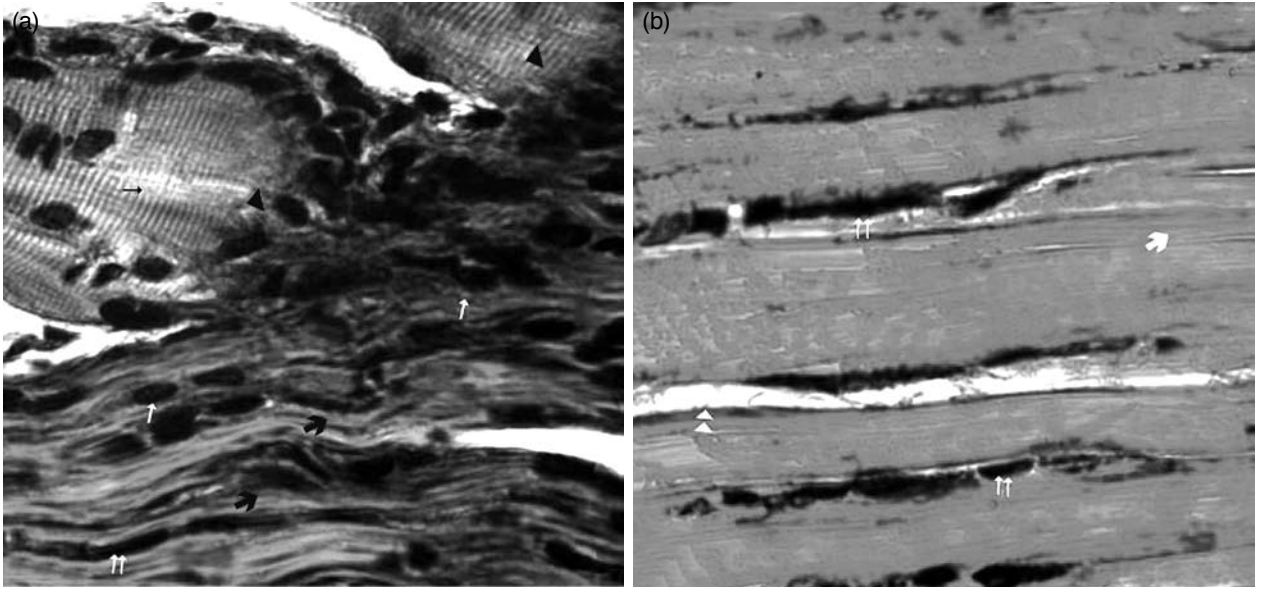
TARTIŞMA

Tendonların ve ligamentlerin fonksiyonlarını sağlıklı şekilde yerine getirebilmeleri için, gerildikten sonra tekrar eski halini alacak şekilde esnek yapıda olmaları gerekir. Normal yaşlanma süreci dokuların esnekliğini yitirmesine neden olur.^[9] Histolojik özellikleri ve kullanılan boyamalar insan ve laboratuvar hayvanında benzerlik gösterdiğinden, son yıllarda Aşil tendonu ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. İnsan tendonunda yapılan çalışmalar daha çok rüptüre tendon materyalinde veya kadavra tendonunda yapılmıştır.^[4,8,11,15-19] İnsan tendonlarının toplam ağırlığının %70'ini su oluşturur. Kalan %30'luk kuru tendon ağırlığının %65-80'ini kollajen, %2'sini elastin ve %2-5'ini de glikoprotein oluşturur. Kollajenin %90'ı tip I, kalan %10'u ise

TABLO II

Gruplar arasındaki tenosit sayısının Scheffe testi karşılaştırılması

Gruplar	p
Prepubertal-ergin	0.000
Prepubertal-geç ergin	0.0001
Ergin-geç ergin	0.0001

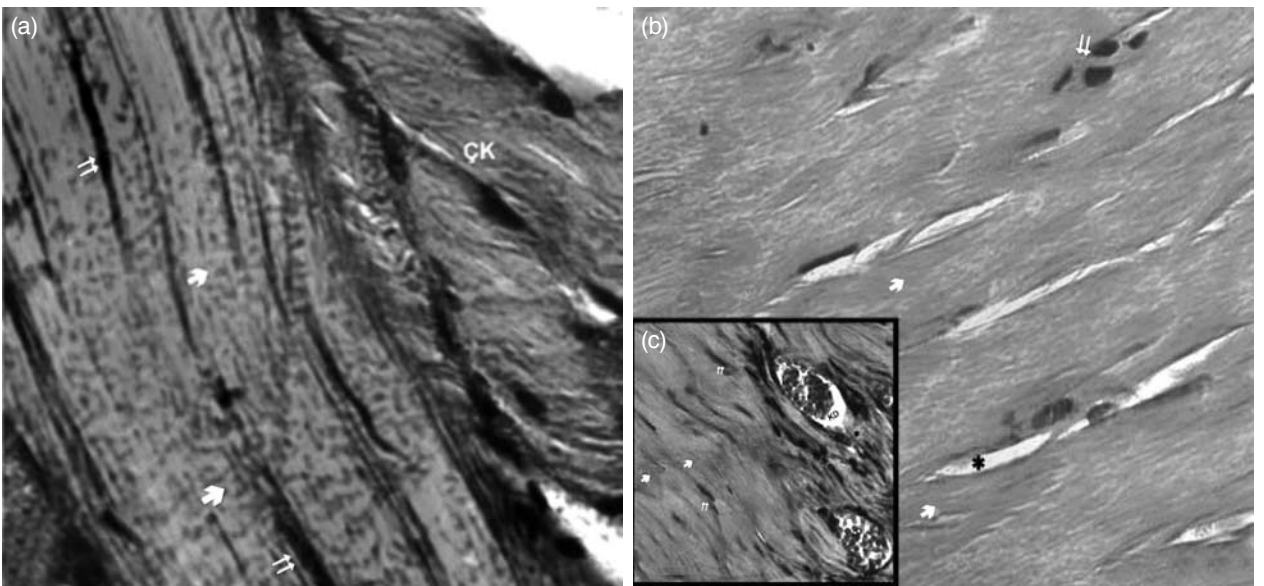


Şekil 2. Altı aylık grup; (a) kollagen lifler (→), iğ şeklindeki çekirdekleri izlenen tenositler (⇔), kas ve tendonun birleşme bölgesinde görülen (▶) oval çekirdekli tenositler (†), kas dokusundaki çizgilenme (→) dikkati çekiyor (Sirius kırmızısı x 400), (b) kırmızı renkli olarak izlenen kollagen lifler (→), iğ şeklindeki çekirdekleri ile tenositler (⇔), kollagen lifler arasında görülen açılmalar (▶▶) izleniyor (Sirius kırmızısı-Pikrik asit x 400).

tip III kollajendir. Ekstraselüler matris iskeleti içerisinde tenoblastlar ve tenositler tendonların hücresel içeriğinin %90-95'ini oluştururlar.^[7,20]

Jozsa ve ark.^[16] sağlam ve rüptüre olmuş insan Aşil ve m. biceps brachii tendonlarında pikrik asit-Sirius kırmızısı polarizasyon yöntemi uygulamış ve kalın, güçlü turuncu boyanan tip I kollajen lifleri

yoğun olarak görmüşlerdir. Dejenere tendonda ise kalın tip I kollajen lifleri arasında ince yeşilimsi tip III kollajen liflerinin görüldüğü bölgeleri izlemiştir. Pikrik asit-Sirius kırmızısı boyama yöntemiyle boyanmış ışık mikroskopik incelemelerimizde normal sıçan Aşil tendonu olduğu için, tip I kollajen liflerinin yoğun olarak boyandığı izlendi. Tip III



Şekil 3. On iki aylık grup; (a) Aşil tendonunda yapılan Sirius kırmızısı ile yapılan boyamada kırmızı renkli kollagen lifler (→), tenositler (⇔), yeşil renkte izlenen çizgili kas (ÇK) dokusu görülüyor (Sirius kırmızısı x 400), (b) kollagen lifler (→), tenositler (⇔), artan ara bağ dokusu (*) ilgiyi çekiyor (Sirius kırmızısı-Pikrik asit x 400), (c) kollagen lifler (→), tenositler (⇔), ara bağ dokusu (*) ve kan damarları (KD) görülüyor (Sirius kırmızısı-Pikrik asit x 400).

kollajen, fetal ve yaralanma sonrası hızlı yapılanma döneminde belirgin olarak izlendiği için, sağlam ve matüre tendonda yaptığımız çalışmada sadece tip I kollajenin boyandığı görüldü.

Kannus ve Jozsa'nın^[17] spontan rüptür sonucu elde edilen Aşil tendonlarının %97'sinde dejeneratif değişiklikler saptanmış ve bu değişikliklerin özellikle 35 yaş üstü insanlarda daha fazla bulunduğu gösterilmiştir. Aström ve Rausing'in^[4] insanlarda yaptığı klinik çalışmada histopatolojik değişikliklerin artan yaşla ilgili olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda da, yaşa koşut olarak kollajen liflerin ve ondüasyonunun azaldığı, tenositlerin iç şeklinde veya ovalimsi yapıda olduğu, ara maddenin arttığı ve kollajen lifler arasında da kan damarı artışı gözlemlendi.

Maffulli ve ark.^[18] sağlam ve rüptüre Aşil tendonlarında, ışık mikroskobu ile lif yapısı, düzeni, tenosit çekirdeği, hücre içeriğindeki bölgesel değişiklikler, damarlanma artışı, azalmış kollajen boyanması, hiyalinizasyon ve glikozaminoglikan içeriğini incelemişlerdir. Rüptüre Aşil tendonlarında görülen dejeneratif değişiklikler, herhangi bir patolojisi olmayan sağlam tendona sahip ancak yaşlı bireylerde de kısmen görülebilmektedir.

Çalışmamızda da altı aylık grupta ışık mikroskobik olarak tenositlerin çekirdeklerinin diğer gruplara karşı daha az ve çoğunlukla da oval şekilli ve yan yana yerleşmeleri gibi özellikler dikkat çekiyordu. Kas lifi ile tendonunun birleşme bölgesinde çekirdek yoğunluğu ve kas lifleri arasında bağ dokusu ara madde ve damarlanma artışı saptandı. Tenosit hücre sayısının istatistiksel olarak azaldığı ($p < 0.05$) gözlemlendi.

Cetta ve ark.^[12] kollajen liflerin ortalama çapları ve içeriklerinde, dokunun olgunlaşması ile bağlantılı olarak, yaşla birlikte artış olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda maturasyon döneminde olan 2-3 haftalık grupta da kollajen liflerin yoğun olarak boyandığı ve bu dönemde tenositlerin aktif olduğu izlendi. Cetta ve ark.^[12] fetal ve yenidoğan tavşanlarda kollajen lifleri grup içinde aynı boyutlarda bulmuşlardır. Genç erişkin grupta kollajen lif çapları çok değişken olup, ancak daha sıkı dizilim göstermektedir.

Çalışmamızda da 2-3 haftalık grupta kollajen lif düzenlenmesinin sıkı olup tenositlere koşut olarak yer yer enine çizgilenmeler gösterdiği belir-

lenmiştir. Zhou ve ark.^[19] tavşan Aşil tendonlarında yaptıkları çalışmada, immobilizasyon sonucu zayıflamış tendonu ve sağlam tendon yarılarını, ışık ve elektron mikroskobik olarak karşılaştırmışlardır. Işık mikroskobik olarak tendonun kesit alanı, tenosit, adipozit ve kan damarı sayısı, çekirdek yuvarlaklığı, kollajen liflerin belirginleştiği alanlar değerlendirilmiştir. Transmisyon elektron mikroskobunda kollajen lif çapı ve yoğunluğuna bakılmıştır. Her iki incelemede de hareketsiz ve sağlam yarı tendonlarda istatistiksel fark bulunmamıştır. Çalışmamızda da ışık mikroskobik olarak yaşla çekirdeklerin yuvarlaklaştığı, tenosit sayısının azaldığı, damarlanmanın ve yağ hücrelerinin arttığı izlendi.

Kas yaralanmaları genellikle kas-tendon bileşesi yakınlarında olmaktadır. Immobilizasyon, miyotendinöz bileşke yerindeki gerilim kuvvetini azaltır. Kas-tendon bileşkesindeki kanlanma muhtemel patolojik durumlara karşı koruyucu olan portal sistem (kapiller-arteriol-kapiller sistem) ile sağlanmaktadır. Gittikçe artan oranda yapılan fiziksel egzersizler, yeniden damarlanma artışı sağlayarak yaralanan veya immobilize olan kası yeni zedelenmelerden korur.^[20]

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

Hadjicostas ve ark.^[15] 20 kadavranın patella ve hamstring grubu kasların tendonlarını immunohistokimyasal, ışık ve elektron mikroskobik olarak kollajen fibrillerinin kalınlığı, lif/interstisyum oranı, kan damar ve fibroblast yoğunluğu, kollajen liflerin dağılımı gibi parametrelere bakarak karşılaştırmışlardır. Lif/interstisyum oranı ve fibroblast yoğunluğu hamstring grubu kasların tendonlarında daha yüksek bulunmuştur. Kollajen liflerin dağılımı, kan damar yoğunluğu açısından fark görülmemiştir.^[15] Yaşla koşut yaptığımız çalışmamızda, kollajen lifler yaşla azalırken ara madde ve interstisyumun arttığı belirgin olarak gözlemlendi.

Sağlam sıçan Aşil tendonunda ışık mikroskobik olarak yaptığımız çalışmada, yaşın ilerlemesine bağlı olarak tendonda histolojik değişiklikler saptandı. Pikrik asit-Sirius kırmızısı boyaması ile yapılan ışık mikroskobik incelemede, yaşın artmasıyla

yoğun kırmızı renkte boyanan kollajen liflerin ondülasyonunda azalmaya bağlı elastikiyette azalma, tenosit çekirdeklerinde yuvarlaklaşma, ara madde ve kan damarı artışı, tenosit sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü. Erişkin (6 aylık) yaş grubunda başlayan bu dejeneratif değişikliklerin, özellikle bu yaş grubunda, diğer faktörlerin etkisiyle de Aşil tendon lezyonlarının sıklığındaki artışı düşündürmektedir. Aşil tendonunda yaşa bağlı oluşan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin, tendonda yaralanma ve yırtılma ile sonuçlanmaması ve normal durumunun yaşam boyu korunması için, özellikle erişkin yaş grubunda olup spor yapanlara aktivite öncesi aşil tendon ve bacak kaslarını germe egzersizi yapımları önerilebilir.

Sonuç olarak, çalışmamızdaki yaşa bağlı tendon yapısındaki değişim bulgularının, kliniğe katkıda bulunabileceği inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Susan S, Collins P, Wigley C. Foot and ankle. In: Standring S, editor. Gray's anatomy. 39th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone-Elsevier; 2005. p. 1536-45.
2. Järvinen TA, Kannus P, Paavola M, Järvinen TL, Józsa L, Järvinen M. Achilles tendon injuries. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:150-5.
3. Mazzone MF, McCue T. Common conditions of the achilles tendon. *Am Fam Physician* 2002;65:1805-10.
4. Aström M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop Relat Res* 1995;316:151-64.
5. Casparian JM, Luchi M, Moffat RE, Hinthorn D. Quinolones and tendon ruptures. *South Med J* 2000; 93:488-91.
6. Kissel CG, Sundareson AS, Unroe BJ. Spontaneous Achilles tendon rupture in a patient with systemic lupus erythematosus. *J Foot Surg* 1991;30:390-7.
7. Nordin M, Lorenz T, Campello M. Biomechanics of tendons and ligaments. In: Nordin M, Frankel VH, editors. *Basic biomechanics of the musculoskeletal system*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 103-23.
8. Sargon MF, Ozlu K, Oken F. Age-related changes in human tendo calcaneus collagen fibrils. *Saudi Med J* 2005;26:425-8.
9. Arnesen SM, Lawson MA. Age-related changes in focal adhesions lead to altered cell behavior in tendon fibroblasts. *Mech Ageing Dev* 2006;127:726-32.
10. Bailey AJ, Paul RG, Knott L. Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mech Ageing Dev* 1998; 106:1-56.
11. Benjamin M, Tyers RN, Ralphs JR. Age-related changes in tendon fibrocartilage. *J Anat* 1991;179:127-36.
12. Cetta G, Tenni R, Zanaboni G, De Luca G, Ippolito E, De Martino C, et al. Biochemical and morphological modifications in rabbit Achilles tendon during maturation and ageing. *Biochem J* 1982;204:61-7.
13. Ippolito E, Natali PG, Postacchini F, Accinni L, De Martino C. Morphological, immunochemical, and biochemical study of rabbit achilles tendon at various ages. *J Bone Joint Surg [Am]* 1980;62:583-98.
14. Huang TF, Perry SM, Soslowsky LJ. The effect of overuse activity on Achilles tendon in an animal model: a biomechanical study. *Ann Biomed Eng* 2004;32:336-41.
15. Hadjicostas PT, Soucacos PN, Paessler HH, Koleganova N, Berger I. Morphologic and histologic comparison between the patella and hamstring tendons grafts: a descriptive and anatomic study. *Arthroscopy* 2007; 23:751-6.
16. Józsa L, Réffy A, Bálint JB. Polarization and electron microscopic studies on the collagen of intact and ruptured human tendons. *Acta Histochem* 1984;74:209-15.
17. Kannus P, Józsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg [Am]* 1991;73:1507-25.
18. Maffulli N, Barrass V, Ewen SW. Light microscopic histology of achilles tendon ruptures. A comparison with unruptured tendons. *Am J Sports Med* 2000;28:857-63.
19. Zhou J, Koike Y, Uthoff HK, Trudel G. Quantitative histology and ultrastructure fail to explain weakness of immobilized rabbit Achilles' tendons. *Arch Phys Med Rehabil* 2007;88:1177-84.
20. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg [Am]* 2005;87:187-202.