



Ön çapraz bağ cerrahisinde eklemiçi sıvıda ameliyat öncesi ve sonrası kollajenaz, TIMP-1 ve TNF- α düzeyleri

Evaluation of intra-articular collagenase, TIMP-1, and TNF- α levels before and after anterior cruciate ligament reconstruction

Burak AKESEN, Burak DEMİRAĞ, Ferah BUDAK¹

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, ¹Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmada, ön çapraz bağ (ÖÇB) cerrahisinden sonra kemik-tendon iyileşmesinde etkili olduğunu düşündüğümüz kollajenazların, bu kollajenazların salınımını düzenleyen sitokinlerden olan tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve kollajenaz enzimlerinin doğal inhibitörü olan TIMP-1 enzimi düzeyleri sinovyal sıvıda araştırıldı.

Çalışma planı: Çalışmaya, izole ÖÇB cerrahisi uygulanan hastalar arasından, ameliyat sonrası takiplerde diz eklemde efüzyon gelişen ve bu nedenle ameliyat sonrası artrosentez yapılan 16 hasta (15 erkek, 1 kadın; ort. yaş 27; dağılım 17-40) alındı. Bu hastalardan ameliyat sırasında ve sonrasında alınan sinovyal sıvı örneklerinde kollajenaz, TNF- α ve TIMP-1 düzeyleri uygun kitler kullanılarak ölçüldü. Ön çapraz bağın kopması ile ameliyat arasında geçen süre ortalama 21 \pm 10 ay (dağılım 1-72 ay), ameliyattan sonra artrosentez sırasında eklemiçi sıvı alma için geçen süre ortalama 18 saat (dağılım 12-36 saat) idi.

Sonuçlar: Ameliyat sırasında ve sonrasında alınan eklemiçi sinovyal sıvı örneklerinde ölçülen değerler kollajenaz için sırasıyla 1.49 \pm 0.06 ng/ml ve 1.45 \pm 0.05 ng/ml, TIMP-1 için 12 \pm 5 ng/ml ve 22 \pm 9.5 ng/ml, TNF- α için 10.4 \pm 7.1 pr/ml ve 14.11 \pm 6.1 pr/ml bulundu. Kollajenaz ve TNF- α açısından ameliyat sonrasındaki değişimlerde anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla, p=0.098 ve p=0.069); TIMP-1 düzeyindeki artış ise anlamlıydı (p=0.026).

Çıkarımlar: Çalışmamızdaki dizlerde ÖÇB kopuk olduğundan, TNF- α , kollajenaz, TIMP-1 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Verilerimiz bu değerlerin ameliyat sonrası yakın dönemde nasıl değişim geçirdiğini göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Ön çapraz bağ/yaralanma; matris metalloproteinazları; diz eklemi; sinovyal sıvı; metalloproteinaz doku inhibitörü; tümör nekroz faktör-alfa.

Objectives: We investigated intra-articular levels of collagenase, which presumably promotes bone-tendon healing, and collagenase mediators involved in its production (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α) and inhibition (TIMP-1 enzyme) in patients following anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction.

Methods: The study included 16 patients (15 males, 1 female; mean age 27 years; range 17 to 40 years) who underwent arthrocentesis due to effusion that developed following reconstruction of isolated ACL injuries. Intra-articular levels of collagenase, TNF- α , and TIMP-1 were measured using appropriate activity assay and immunoassay kits in synovial fluid samples obtained intraoperatively and during arthrocentesis. The mean time from ACL injury to surgical repair was 21 \pm 10 months (range 1 to 72 months). Arthrocentesis was performed in a mean of 18 hours (range 12 to 36 hours) following ACL repair.

Results: Measurements in synovial fluid samples obtained intra- and postoperatively yielded 1.49 \pm 0.06 ng/ml and 1.45 \pm 0.05 ng/ml for collagenase, 12 \pm 5 ng/ml and 22 \pm 9.5 ng/ml for TIMP-1, and 10.4 \pm 7.1 pr/ml and 14.11 \pm 6.1 pr/ml for TNF- α , respectively. Postoperative changes in the levels of collagenase (p=0.098) and TNF- α (p=0.069) were not significant, whereas increase in the TIMP-1 level was significant (p=0.026).

Conclusion: This study showed elevated levels of TNF- α , collagenase, and TIMP-1 due to the presence of ruptured ACL. Our findings showed how these levels changed in the acute postoperative period.

Key words: Anterior cruciate ligament/injuries; matrix metalloproteinases; knee joint; synovial fluid; tissue inhibitor of metalloproteinases; tumor necrosis factor-alpha.

Yazışma adresi / Correspondence: Dr. Burak Akesen. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 16059 Görükle, Bursa. Tel: 0224 - 294 00 00 e-posta: akeseb@msn.com

Başvuru tarihi / Submitted: 16.08.2008 **Kabul tarihi / Accepted:** 06.03.2009

© 2009 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği / © 2009 Turkish Association of Orthopaedics and Traumatology

Son zamanlarda, yumuşak doku tendon grefti kullanılarak yapılan ön çapraz bağ (ÖÇB) onarımlarında tendon-tünel iyileşmesini geliştirmek için önemli çalışmalar ve araştırmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, iyileşmenin biyomekanik kısmı olan greftin yerleştirilmesi ve tespit edilmesi sonrası, biyolojik birtakım olayları ve ajanları da içermektedir.^[1]

Eklemiçi sinovyal sıvının greft ve tendon arasına girebileceği ve içerdiği biyolojik ajanlar enzimler vasıtasıyla kemik-tendon iyileşmesini etkileyebileceği çeşitli çalışmalarda kanıtlanmıştır.^[2,3] Matriks proteinazı grubu üyesi kollajenazların (MMP-1, MMP-8, MMP-13) eklemiçi sinovyal sıvıda bulunduğu ve bu etkileşimde yer aldığı gösterilmiştir.^[2] Doku matriks metalloproteinaz inhibitörü (TIMP-1) bu enzimlerin doğal inhibitörüdür. Kollajenaz enzim aktivitesi, kollajenazlar ve TIMP-1 arasındaki denge ile düzenlenir.^[4]

Bu çalışmamızda, tünellere girip kemik tendon iyileşmesini etkileyebileceğini düşündüğümüz kollajenazların, ameliyat sonrası erken dönemde eklemiçi sıvıda artıp artmadığını araştırdık. Bu amaçla, ameliyat öncesi ve sonrası dönemlerde eklemiçi sinovyal sıvıda, kollajenazların salınımını düzenleyen sitokinlerden olan tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), kollajenaz enzimleri ve kollajenaz enzimlerinin doğal inhibitörü olan TIMP-1 enzimi düzeylerini ölçtük.

Hastalar ve yöntem

Çalışmaya, izole ÖÇB cerrahisi uygulanan hastalar arasından, ameliyat sonrası takiplerde diz eklemde efüzyon gelişen ve bu nedenle ameliyat sonrası artrosentez yapılan 16 hasta (15 erkek, 1 kadın; ort. yaş 27; dağılım 17-40) alındı. Bu hastaların ameliyatlı dizlerinden alınan eklem sıvıları incelendi. Ön çapraz bağın koptuğu tarih ile ameliyat arasında geçen süre ortalama 21 ± 10 ay (dağılım 1-72 ay) idi. Rekonstrüksiyon için tüm hastalarda dörde katlanmış hamstring tendon grefti uygulandı. Femoral taraf sapan sistemi ile, distal taraf tünel ağzına interferans vidası ve staple desteği ile tespit edildi.

Eklemiçi sinovyal sıvı, cerrahi sırasında artroskopisi öncesinde diz ekleminden sterilite kurallarına uygun şekilde alındı. Bu örnekler 10000 rpm devirde santrifüj edildi. Bu işlemle içerdikleri hücreler ve doku kalıntılarından arındırılan örnekler -80 °C'de bekletildi. Ameliyat sonrası birinci gün kontrollerinde, ortalama 18 saat sonra (dağılım 12-36 saat) efüz-

yon gelişmesi sonucu uygulanan artrosentezde elde edilen sıvı eklemiçi sıvı olarak kullanıldı ve aynı işlemler uygulandı. Hastalar ameliyat ve ameliyat sonrası olası komplikasyonlar hakkında bilgilendirildi ve artrosentez uygulaması ile ilgili izinleri alındı.

Eklemiçi sinovyal sıvılardan alınan örneklerde, kollajenaz düzeyi tip I kollajenaz (MMP-8) aktivite kiti (Type I Collagenase Activity Assay Kit, Chemicon International, Temecula, CA, ABD) kullanılarak enzim aktivite ölçüm yöntemi ile belirlendi.

TIMP-1 düzeyi insan TIMP-1 kiti (Chemicon International), TNF- α düzeyi insan TNF- α kiti (Biosource International, Camarillo, CA, ABD) kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Ölçümler tamamlandıktan sonra, ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası değerler karşılaştırıldı. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi Wilcoxon NPar ve ki-kare testleriyle yapıldı.

Sonuçlar

Ameliyat öncesi eklemiçi sinovyal sıvılardaki kollajenaz enzim düzeyi ortalama 1.49 ± 0.06 ng/ml (dağılım 1.34-1.50) iken, ameliyat sonrası değer 1.45 ± 0.05 ng/ml (dağılım 1.41-1.50) idi. Bu değerler arasındaki fark anlamlı değildi ($p=0.098$). İncelenen 16 dizin 11'inde (%68.8) enzim düzeyinde artış görüldü.

TIMP-1 düzeyi ameliyat öncesinde ortalama 12 ± 5 ng/ml (dağılım 2.4-55.9), ameliyat sonrasında 22 ± 9.5 ng/ml (dağılım 3.6-34.5) bulundu. TIMP-1 düzeyindeki artış anlamlı idi ($p=0.026$). On iki dizde (%75) TIMP-1 düzeyinde artış saptandı.

TNF- α düzeyi ameliyat öncesinde ortalama 10.4 ± 7.1 pr/ml (dağılım 3.1-28.1), ameliyat sonrasında 14.11 ± 6.1 (dağılım 3.1-58.1) olarak ölçüldü. Bu artış anlamlı bulunmadı ($p=0.069$). TNF- α açısından yedi dizde (%43.8) artma, yedi dizde azalma gözlenirken, iki dizde (%12.5) değişiklik olmadı.

Tartışma

Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13) ve bunların doğal inhibitörü olan TIMP-1 osteoartrit ve kırık hasarlarıyla ilgili olarak birçok çalışmada incelenmiştir.^[5-8] Ön çapraz bağ kopuk olan dizde osteoartrit gelişir. Bu duruma, biyomekanik olarak dizin instabil olması, biyokimyasal olarak da ÖÇB kopuk olan dizlerin eklemiçi sinovyal sıvılarında varlığı kanıtlanmış birtakım enflamatuvar sitokinler

ve MMP/TIMP-1 enzimleri neden olur.^[9] Kollajenaz enzimi düzeyinde ameliyat öncesi ve ortalama 18 saat sonrası dönemde artış olmadığını saptadık. Bu enzimlerin salınımını sağlayan TNF- α ve bu enzimlerin doğal inhibitörü TIMP düzeyini araştırdığımızda, TIMP düzeyinin ameliyat sonrası dönemde artmış olduğunu belirledik. TIMP düzeyinin ameliyat sonrası eklemiçi sıvıda incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlamadık.

Higuchi ve ark.^[10] ÖÇB kopukluğu olan dizlerde eklemiçi sinovyal sıvıda sitokin, MMP ve TIMP düzeylerini ölçmüşler, ÖÇB kopuk olan dizlerde TIMP ve MMP-3 düzeylerinin arttığını, TIMP ve MMP-3 arasındaki dengenin MMP-3 lehine büyük oranda bozulduğunu saptamışlardır. Bu artışın nedeninin sitokin (IL6) düzeyindeki artış olabileceği düşünülmüştür.^[10]

Doğal inhibitör olan TIMP-1 tarafından aktivitelediği sıkı şekilde kontrol edilen MMP'ler, uygun oranda doku matrisi devinimi sağlanan bağ dokusunun yeniden yapılanmasında önemli rol oynarlar. Bu kontrol mekanizması 1:1 oranında enzim-inhibitör kompleksi oluşturan blok ile gerçekleştirilir.^[11-14] Bağ dokusu yeniden yapılanmasının yıkım fazında MMP'ler, onarım fazında TIMP-1 hakimdir.^[12] Böylelikle, plazma ve dokulardan kaynaklanan TIMP-1 proteolitik aktiviteyi kontrol etmiş olur. MMP'ler fibroblastlar, sinovyal hücreler, kondrositler, lökositlerden salınır. Cerrahi sonrası meydana gelen efüzyon daha ziyade hemorajik özelliktedir. Enflamasyon özelliği kazanması ve MMP kaynağı olabilecek hücreleri barındırması için bir süre gerekir. Çalışmamızdaki eklemiçi sinovyal sıvıların cerrahi sonrası alınma süreleri göz önüne alındığında, geçen zaman azdır. MMP miktarı bu nedenle artmamış olabilir. Nitekim, köpek dizinde yapılan bir çalışmada, ÖÇB kesilmesinden sonra sinovyal reaksiyon 13 hafta sonra belirginleşmiş ve buna bağlı enflamatuvar hücre artışı meydana gelmiştir.^[14] Sinovyal membranda meydana gelen patoloji olasılıkla eklemde instabilite ve eklem yüzeyi uygunsuzluğu ile mekanik hasarlanmaya yol açar; bu durum, daha sonra bazı mediyatörlerin oluşması ile olayı daha da şiddetlendirir.

Ön çapraz bağ ameliyatlarından sonra, içinde sitokin ve MMP/TIMP-1 gibi biyolojik ajanların bulunduğu eklemiçi sinovyal sıvı greftin iyileşmesi ile etkileşir. Cerrahi tekniğe ve tespit yöntemine bağlı olarak greftin tünel içinde iyileşmesi, tendon-kemik veya kemik-kemik iyileşmesi şeklinde gerçekleş-

mektedir. Tendon-kemik iyileşmesinde, diz içindeki sinovyal sıvı tendon ile kemik aralığına girerek bu iyileşmeyi olumsuz etkiler (sinovyal banyo etkisi). Bu tünele giren sıvı aynı zamanda veya daha sonra ortaya çıkabilecek tünel genişlemesi olayında da rol oynamaktadır.

Cameron ve ark.^[15] ÖÇB kopmasından sonraki haftalarda, eklemiçi sinovyal sıvıda enflamatuvar sitokinlerin (TNF- α) ve interlökinlerin düzeylerinde artış saptamışlardır. Bu biyolojik ajanların tünel genişlemesinde, osteoklastik aktiviteyi uyararak kemik rezorbsiyonunu artırdıkları bilinmektedir.^[15] Zysk ve ark.^[16] tünel genişlemesinin patolojisinde biyolojik faktörlerin etkisini araştırmak amacıyla eklemiçi sinovyal sıvıdaki sitokin konsantrasyonunu incelemişler ve cerrahiden yedi gün sonra artan sitokin konsantrasyonunun tünel genişlemesi ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kollajenaz salınımı, sinovyal hücrelerden salınan IL1 ve TNF tarafından uyarılır. Hayvan deneylerinde ve ÖÇB revizyon cerrahisinde tendon materyallerinde yapılan çalışmalarda, tendon-kemik iyileşmesinin fibrovasküler bir dokunun gelişimi ve bu dokunun daha sonra Sharpey benzeri liflere dönüşerek geliştiği gösterilmiştir.^[17] Bu iyileşme dokularının MMP'lerle etkileşmesiyle iyileşmenin bozulabileceği bildirilmiştir.^[2] Bu olası etkileşme yönünden değerlere baktığımızda, TIMP-1 artışının, artan MMP miktarına bağlı ve olası olumsuz proteolitik aktiviteyi baskılamak amacıyla olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda aktif MMP'leri ölçtüğümüzden dolayı da MMP artışını saptayamamış olabiliriz. Kollajenazların etki mekanizması, vücut sıvılarında veya dokularda (diz için sinovyal doku veya eklemiçi sinovyal sıvı) kısa süreli aktif formlarının ortaya çıkması ve ilgili hedef dokuya tutunması sonucunda oluşur. Bu durumda enzimlerin varlığının gösterilmesi, bu enzimlerin buldukları ortamda artmış hallerinin veya tutundukları hedef dokuda artmış düzeylerinin ölçülmesi veya bloke edilmelerinde oluşacak etkinin incelenmesi ile mümkün olacaktır.

TNF- α , enflamatuvar sitokinlerdendir. Aynı zamanda MMP salınımına da etkisi vardır. Elsaid ve ark.^[18] ÖÇB kopması olan dizlerden artrosentez yoluyla aldıkları eklemiçi sinovyal sıvılarda diğer enflamatuvar sitokinlerle beraber TNF- α değerinde de, özellikle erken dönemde daha yüksek olmak üzere, bir artış olduğunu ve bu artışın lubrikin konsantras-

yonun azalmasına neden olduğunu saptamışlardır. Irie ve ark.^[19] enflamatuvar sitokin değerinin ÖÇB kopmasının ilk 24 saatinde yüksek olduğunu, daha sonra azaldığını bildirmişlerdir. Ancak, Elsaid ve ark.nın^[18] çalışmasında bu değer altı ay kadar yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda ÖÇB kopması ile cerrahi arasında geçen ortalama süre 21 aydır. Bu zaman içinde TNF- α 'nın düşeceği ve eklemiçi sinovyal sıvısındaki normal değere geleceği beklenirdi. Ancak, TNF- α 'nın bu çalışmadaki ortalama değerine bakıldığında, ÖÇB yaralanması geçiren diz eklemine enflamatuvar sürecin devam ettiği ve TNF- α değerlerinin yüksek seyretmeyi sürdürdüğü görülmektedir. TNF- α 'nın eklemiçi sinovyal sıvıda normal seviyesi 4.4 ng/ml dolayındadır. Çalışmadaki dizlerde ÖÇB kopuk olduğundan, TNF- α ve MMP-TIMP düzeyleri yüksektir, bu değerler ameliyat sonrası hemorajik ve kısmi enflamatuvar yapıda olan eklemiçi sinovyal sıvıda artma veya azalma yönünde değişebilir. Bu yüzden bu çalışma anlamlıdır.

Çalışmamızda teknik olarak eksik olan kısım, ameliyat sonrası alınan eklemiçi sinovyal sıvının ne kadarının gerçekte eklem sıvısı, ne kadarının eklemiçi kanama olduğunun belirlenmemiş olmasıdır. Alınan sıvıların anlamlı miktarının hemorajik özellikte olacağı düşünülürse, sonuçların bu nokta dikkate alınarak değerlendirilmesi daha doğru olacaktır.

Çalışmamızdaki diğer bir tartışmalı nokta, artrosentez uygulamasının zamanıdır. Çalışmanın yürütüldüğü dönemde, kliniğimizde ÖÇB cerrahisi sonrası dren konulması rutin uygulamanın dışındaydı. Bu çalışmaya, ameliyat sonrası birinci gün kontrollerinde (12-36 saat) diz eklemine efüzyon gelişen ve artrosentez uygulamasının zorunlu olduğunu düşündüğümüz hastalar alınmıştır. Bunun sonucunda, elde edilen ortalama değer ameliyat sonrası 18. saattir.

Bu çalışmada kollajenaz, TIMP-1 ve TNF- α miktarlarını araştırdık. TIMP-1 miktarında artış gözlerken, diğerlerinde bir artış ve aralarında bir ilişki saptayamadık. Bu durum büyük olasılıkla örneklerin ameliyat sonrası erken dönemde alınmasına bağlı olabilir. Ancak, bize şöyle bir fikir verebilir: ÖÇB cerrahisi sonrası kollajenazlar ve inhibitörleri ve bunların indükleyicileri ÖÇB onarımı sonrası biyolojik ortamda var olan maddelerdir. Bunlar akut dönemde değil, uzun bir zamandan sonra ortaya çıkmakta olabilirler. Varlıklarını ve miktarlarını gelişmiş yöntemlerle kanıtlamak daha uygun olacaktır.

Kaynaklar

1. Steiner ME, Murray MM, Rodeo SA. Strategies to improve anterior cruciate ligament healing and graft placement. *Am J Sports Med* 2008;36:176-89.
2. Demirağ B, Sarısözen B, Özer O, Kaplan T, Öztürk C. Enhancement of tendon-bone healing of anterior cruciate ligament grafts by blockage of matrix metalloproteinases. *J Bone Joint Surg [Am]* 2005;87:2401-10.
3. Demirağ B, Sarısözen B, Durak K, Bilgen ÖF, Öztürk C. The effect of alpha-2 macroglobulin on the healing of ruptured anterior cruciate ligament in rabbits. *Connect Tissue Res* 2004;45:23-7.
4. Docherty AJ, Murphy G. The tissue metalloproteinase family and the inhibitor TIMP: a study using cDNAs and recombinant proteins. *Ann Rheum Dis* 1990;49 Suppl 1:469-79.
5. Masuhara K, Bak Lee S, Nakai T, Sugano N, Ochi T, Sasaguri Y. Matrix metalloproteinases in patients with osteoarthritis of the hip. *Int Orthop* 2000;24:92-6.
6. Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, Yamada H, Hayakawa T, Fujikawa K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000;59:455-61.
7. Ishiguro N, Ito T, Ito H, Iwata H, Jugessur H, Ionescu M, et al. Relationship of matrix metalloproteinases and their inhibitors to cartilage proteoglycan and collagen turnover: analyses of synovial fluid from patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:129-36.
8. Maiotti M, Monteleone G, Tarantino U, Fasciglione GF, Marini S, Coletta M. Correlation between osteoarthritic cartilage damage and levels of proteinases and proteinase inhibitors in synovial fluid from the knee joint. *Arthroscopy* 2000;16:522-6.
9. Niebauer GW, Wolf B, Bashey RI, Newton CD. Antibodies to canine collagen types I and II in dogs with spontaneous cruciate ligament rupture and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1987;30:319-27.
10. Higuchi H, Shirakura K, Kimura M, Terauchi M, Shinzaki T, Watanabe H, et al. Changes in biochemical parameters after anterior cruciate ligament injury. *Int Orthop* 2006;30:43-7.
11. Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J* 1991;5:2145-54.
12. Edwards DR, Beaudry PP, Laing TD, Kowal V, Leco KJ, Leco PA, et al. The roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in tissue remodelling and cell growth. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20 Suppl 3:S9-15.
13. Foos MJ, Hickox JR, Mansour PG, Slauterbeck JR, Hardy DM. Expression of matrix metalloprotease and tissue inhibitor of metalloprotease genes in human anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 2001;19:642-9.
14. Lipowitz AJ, Wong PL, Stevens JB. Synovial membrane

- changes after experimental transection of the cranial cruciate ligament in dogs. *Am J Vet Res* 1985;46:1166-70.
15. Cameron M, Buchgraber A, Passler H, Vogt M, Thonar E, Fu F, et al. The natural history of the anterior cruciate ligament-deficient knee. Changes in synovial fluid cytokine and keratan sulfate concentrations. *Am J Sports Med* 1997;25:751-4.
 16. Zysk SP, Fraunberger P, Veihelmann A, Dörger M, Kalteis T, Maier M, et al. Tunnel enlargement and changes in synovial fluid cytokine profile following anterior cruciate ligament reconstruction with patellar tendon and hamstring tendon autografts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004;12:98-103.
 17. Rodeo SA, Arnoczky SP, Torzilli PA, Hidaka C, Warren RF. Tendon-healing in a bone tunnel. A biomechanical and histological study in the dog. *J Bone Joint Surg [Am]* 1993;75:1795-803.
 18. Elsaid KA, Fleming BC, Oksendahl HL, Machan JT, Fadale PD, Hulstyn MJ, et al. Decreased lubricin concentrations and markers of joint inflammation in the synovial fluid of patients with anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum* 2008;58:1707-15.
 19. Irie K, Uchiyama E, Iwasa H. Intraarticular inflammatory cytokines in acute anterior cruciate ligament injured knee. *Knee* 2003;10:93-6.