

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÖN ÇAPRAZ BAĞ YIRTIKLARINDA  
EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN (EGF) BAĞIN  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Cenk İLGAR**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA  
2017**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÖN ÇAPRAZ BAĞ YIRTIKLARINDA  
EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN (EGF) BAĞIN  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Cenk İLGAR**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mahmut Nedim DORAL**

**ANKARA  
2017**

## TEŞEKKÜR

Yazar, bu çalışmanın gerçekleştirilmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişilere içtenlikle teşekkür eder.

Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral, tez danışmanı ve Anabilim Dalı Başkanı olarak projenin oluşmasında, şekillenmesinde ve çalışmanın ilerlemesinde yönlendirici oldu. Asistanlık eğitimi boyunca ilgi ve desteğini esirgemedi ve bilgisi ile yol gösterici oldu.

Doç. Dr. Gazi Huri, çalışmanın şekillenmesinde ve ilerlemesinde yardımcı oldu ve desteğini esirgemedi.

Doç. Dr. Sinan Yürüker ve Vet. Ramin Hashemihesar, histolojik inceleme konusunda ve çalışmanın şekillenmesinde yardımcı oldular.

Doç. Dr. Pınar Huri, çalışmada kullandığımız polikaprolakton skafoldun tasarımı, üretimi konusunda yardımcı oldu.

Yrd. Doç. Dr. Kenan Dağlıoğlu, laboratuvarlarını bize tüm imkanlarıyla açmış ve çalışmanın birçok basamağında yardımını esirgemedi.

Prof. Dr. Ergun Karaağaoğlu, çalışmanın istatistiksel analizinde yardımcı oldu.

Sevgili eşim Tuba İlgar, bana her zaman destek oldu, sevgi ve ilgisini esirgemedi.

Son olarak Ortopedi ve Travmatoloji eğitimimde bana emeği geçmiş, yardımlarını esirgemeyen tüm değerli hocalarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**İlgar, C., Ön çapraz bağ yırtıklarında epidermal büyüme faktörünün (EGF) bağın iyileşmesi üzerine etkilerinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Tezi, Ankara, 2017.**

Diz yaralanmalarının %40-50'si ön çapraz bağ (ÖÇB) ile ilişkilidir. ÖÇB yırtığı tedavisinde, diğer tedavi yöntemlerine ek olarak trombositten zengin plazma, büyüme faktörleri, hyaluronik asit ve mezenşimal kök hücre gibi biyolojik ajanların kullanılması araştırılmaktadır. Epidermal büyüme faktörü (EGF); hücre proliferasyonunu arttırmakta, diferansiyasyonunu etkilemekte, fibroblast ve kollajen üretimini arttırmakta, anjiogenezi uyarmaktadır. EGF kullanımının yara iyileşmesini arttırdığı yönünde çalışmalar vardır. Bu çalışmada, EGF'nin ÖÇB yırtıklarında, bağın iyileşmesi üzerine etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. 17 tane Yeni Zelanda beyaz tavşanının birer dizlerinde, ÖÇB'nin orta bölgesinden tam kat kesi yapılarak yırtık modeli oluşturulmuştur. İşaretleme amacıyla ÖÇB'lerin distal parçasının kesi uçlarına, emilmeyen dikiş ile sütür atılmıştır. Tavşanlar iki gruba randomize edilmiştir. Dokuz tavşan içeren çalışma grubunda, 3x3 mm'lik standardize edilen, 15 µg insan rekombinant EGF (Heberprot-P®) yüklenmiş, poroz polikaprolakton köpük skafold, eklem aralığında interkondiler çentiğe yerleştirilmiştir. Kontrol grubunda ise bir müdehalede bulunulmamıştır. Tüm tavşanların eklem kapsülü ve cildi kapatılmıştır. Postoperatif takiplerde kontrol grubundan 1, çalışma grubundan 4 olmak üzere toplam 5 tavşan ölmüştür. Hayvanlar 8. haftada öldürülmüş ve ÖÇB dokuları histolojik olarak incelenmiştir. Çıkarılan doku örnekleri, tamponlanmış %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edilmiştir. Parafin bloklara gömülen dokulardan mikrotom cihazı ile 5 mikron kalınlığında 100 adet seri kesit alınmıştır. Kesitler, deparafinizasyon yapıldıktan sonra Masson's Trichrome ve Hematoxylin-Eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmek üzere hazırlanmıştır. Bu deney için alınan kesitlerde; sistematik rastgele örneklemeye uygun bir şekilde 10'da bir örnekleme yapılarak, StereoInvestigator® (MicroBrightfield) programında dokunun tamamının görüntüsü x10 büyütmede "virtual slice" kullanılarak alınmıştır. ÖÇB

dokularının tahmini damar ve ligaman hacimleri, stereolojik bir yöntem olan Cavalieri hacim hesaplama yöntemiyle değerlendirilmiştir. Cerrahi prosedürle eşit miktarda bağ çıkarılmadığı için; damar hacminin, damar ve ligaman hacimlerinin toplamına oranıyla, bağ içi damar hacim oranı hesaplanmıştır. Tüm prosedürler Hayvan Araştırma Etik Kurulundan onay alınarak yapılmıştır. Diseksiyon sırasında yapılan gözlemde, her iki grupta da ÖÇB uçlarının çevre dokuya yapıştığı izlenmiştir. Çalışma grubunda, çıkarılan ÖÇB distal segmentinde, kontrol grubuna göre hacim artışı olduğu gözlenmiştir. Mikroskopik incelemede; çalışma grubundaki tavşanların ÖÇB dokusunda belirgin yeni damar formasyonunun yani anjiogenezin olduğu görülmüştür. Perivasküler alanda aktif fibroblastlar ve yoğun kök hücre artışı gözlenmiştir. Aktif fibroblastların bulunduğu yerlerde tip III kollajen sentezi tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak yeni doku yapımında izlenen yağ hücreleri de görülmüştür. Kontrol grubunda ise kesi yapılan bağ kenerlarında kesi etkisiyle az miktarda damarlanmaya ve kök hücrelere rastlanmış, aktif fibroblast ve yağ hücreleri izlenmemiştir. Ortalama bağ içi damar hacim oranı çalışma grubunda (%24,51), kontrol grubuna kıyasla (%1,36) istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ( $p=0,003$ ). Bizim hipotezimiz olan, ÖÇB yırtığında EGF uygulamasının anjiogenez ve iyileşmeyi arttırdığı histolojik ve istatistiksel olarak gösterilmiştir. EGF'nin etkisinin daha iyi değerlendirilebilmesi ve ÖÇB yırtığı tedavisinde alternatif bir yöntem olarak rolünün belirlenebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. İlerideki çalışmalarda biyomekanik incelemenin de çalışmaya eklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Ön çapraz bağ yırtığı, epidermal büyüme faktörü, tavşan

## ABSTRACT

**İlgar, C., Analysis of effects of epidermal growth factor (EGF) on ligament healing in anterior cruciate ligament tears, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Orthopedics and Traumatology, Ankara, 2017.** Anterior cruciate ligament (ACL) tears are observed by approximately 40-50% in knee injuries. In addition to conventional treatment methods, effects of certain biological agents such as platelet-rich plasma, growth factors, hyaluronic acid and mesenchymal stem cell therapies have been investigated on ACL tear repair. Epidermal growth factor (EGF) increases cell proliferation, collagen and fibroblast production, has an influence on cell differentiation and stimulates angiogenesis. Recent studies suggest that EGF also promotes wound healing. We aimed to investigate the effects of EGF on ligament healing in anterior cruciate ligament tears. All procedures were performed after animal research ethical committee approval. A tear model was formed by a full-thickness incision in the mid-part ACL of 17 knees of 17 New Zealand rabbits. The distal cut-edge of ACL was sutured with nonabsorbable suture material for the intent of marking. Rabbits were randomised into two groups. In the study group consisting of 9 rabbits; a standardized, 3x3 mm porous polycaprolactone foam scaffold carrying 15 µg of human recombinant EGF (Heberprot-P®) was administered in intercondylar notch of the joint space. No intervention or medical device were employed in the control group. The joint capsules and skins of all rabbits were closed. A total of 5 rabbits one of whom was in the control group and four of whom were in the study group deceased during the postoperative follow-up period. Animals were sacrificed at 8<sup>th</sup> week and tissue samples of ACL were examined histologically. Extracted tissue samples were fixated in buffered, 10% neutral formaldehyde solution. Tissues embedded in paraffin blocks were sampled continuously in 5-micron thickness with a microtome and a number of 100 sections were granted. Having been deparaffinized, slides were stained with Masson's Trichrome and Hematoxylin-Eosin dyes for examination via light microscope. Slides sampled in a 1 out of 10 fashion in compliance with the systematic random sampling method were examined by

means of Stereoinvestigator<sup>®</sup> (MicroBrightfield) software after utilizing “virtual slice” to obtain a 10 fold magnified image of the whole tissue. Volumes of the estimated vascular and ligamentous fractions of ACL tissue samples were assessed with Cavalieri volume computation method which is a stereological process. Since even tissue samples were not able to be excised among rabbits, vessel portion within the ligament was calculated through proportioning the vessel volume by the total of vessel and ligament volume. During dissection, cut edges of ACLs in both groups were observed to adhere to the surrounding tissue. An increase in volume of extracted ACL distal segments of the study group was observed in comparison to the control group. On microscopic examination; substantial neovascularization, namely angiogenesis, were noted in the ACL tissue samples of the study group. Moreover, active fibroblasts and profound stem cell increase adjacent to perivascular spaces were detected. Type 3 collagen synthesis were found in regions where active fibroblasts were observed. In addition, fat cells which are noticed in neo-tissue formation were noted. In the control group, scarce vascularization and stem cells due to incision were observed, however no active fibroblasts or fat cells were noted. Average vessel volume ratios was significantly higher in the study group (24.51%) than in the control group (1.36%) ( $p = 0.003$ ). Our hypothesis that EGF application increases angiogenesis and promotes tissue repair in ACL tears was supported histologically and statistically. Further investigation will better enlighten the mode of EGF action and will settle its role as an alternative method in the ACL tear treatment. Biomechanical tools should be added to the next step.

Keywords: Anterior cruciate ligament tear, epidermal growth factor, rabbit.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Embriyoloji	2
2.3. Ön Çapraz Bağ Anatomisi	3
2.4. Biyomekanik Özellikler	5
2.5. Ön Çapraz Bağ Yaralanmaları	5
2.5.1. Anamnez ve Fizik Muayene	5
2.5.2. Görüntüleme	8
2.5.3. ÖÇB Yırtığına Eşlik Eden Diğer Yaralanmalar	9
2.5.4. Tedavi	10
2.5.5. ÖÇB İyileşmesinde Etkili Biyolojik Ajanlar	13
2.5.6. Bağ İyileşmesi	17
3. GEREÇ – YÖNTEM	18
4. BULGULAR	24
4.1. Makroskopik Gözlemler	24
4.2. Mikroskopik Bulgular	25
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	42
KAYNAKLAR	43



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
AÇB	Arka çapraz bağ
AM	Anteromedial
BPTB	Kemik-patellar tendon-kemik, “bone-patellar tendon-bone”
ÇÜTF-DETAUM	Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GF	Büyüme faktörü, “growth factor”
HÜTF	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
IGF-I	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
MKB	Medial kollateral bağ
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
ÖÇB	Ön çapraz bağ
PDGF	“Platelet derived growth faktör”
PF-4	Platelet faktör-4
PL	Posterolateral
PRP	Trombositten zengin plazma, “Platelet rich plasma”
TGF- $\beta$ 1	“Transforming growth factor beta1”
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

## ŞEKİLLER

	Sayfa
<b>Şekil 2.1.</b> Ön çapraz bağın anatomik yerleşimi	4
<b>Şekil 2.2.</b> Ön çapraz bağın, diz ekstansiyon ve fleksiyondayken görünümü.	4
<b>Şekil 2.3.</b> Lachman testi (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi [HÜTF], Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).	7
<b>Şekil 2.4.</b> Ön çekmece testi (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).	7
<b>Şekil 2.5.</b> Pivot shift testi (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).	8
<b>Şekil 2.6.</b> Lateral ve medial radyografik deplasmanın ölçümü (32).	9
<b>Şekil 2.7.</b> Kısmi ÖÇB yırtığı tedavisinde hyaluronik asit mesh kullanımı. A: Parsiyel ÖÇB yırtığının artroskopik görüntüsü, B: Hyaluronik asit mesh uygulanması, C: Operasyondan 1 yıl sonra kontrol artroskopik görüntüsü (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).	16
<b>Şekil 3.1.</b> ÖÇB yırtık modelinin oluşturulması. A: Diz üzerindeki cilt insizyonu, B: Diz eklem kapsülüne girilerek ÖÇB'nin ortaya çıkarılması, C: ÖÇB kesilmesi, D: ÖÇB distal parçası kesi ucunun sütür ile işaretlenmesi, E: Eklem kapsülünün kapatılması.	20
<b>Şekil 3.2.</b> Çalışma grubunda kullanılan skafold (A) ve skafoldun diz eklem kapsülüne yerleştirilmesi (B).	21
<b>Şekil 3.3.</b> Cavalieri stereoloji metodu için kullanılan formül. V: Hacim, Ssf: Serial section fraction, A: Alan, SURS: Sistemantik uniform rastgele örnekleme.	23

- Şekil 4.1.** Tavşanların öldürülmesi sonrasında ÖÇB'nin kontrol (A) ve çalışma (B) gruplarında görünümü. 25
- Şekil 4.2.** 4X büyütmede çalışma grubunda damarlanma artışı genel olarak görülmektedir. Yeni damar oluşumları oklarla gösterilmiştir. 26
- Şekil 4.3.** Çalışma grubunda 40X büyütmede lümenleşme olmadan önceki evredeki damarlanma (A) ve damarlanmanın son aşamalarında lümen oluşumu (B) okla gösterilmiştir. 27
- Şekil 4.4.** 20X büyütmede çalışma grubunda büyük lümeni olan yeni oluşmuş bir damar (siyah ok) ve damarların etrafında aktif fibroblastlar (kırmızı ok) görülmektedir. 28
- Şekil 4.5.** 40X büyütmede çalışma grubunda büyük yeni oluşmuş bir damar (Siyah ok) ve damarların etrafında aktif fibroblastlar ve tip üç kollajenler (Kırmızı ok) görülmektedir. 28
- Şekil 4.6.** Çalışma grubunda damarlanmanın enerjisini sağlamak için bulunan yağ hücreleri 20X büyütmede (A) ve 40X büyütmede (B) okla gösterilmiştir. 29
- Şekil 4.7.** Kontrol grubunda 63X büyütmede dokuda az bir miktardaki damarlanma okla gösterilmiştir. 30
- Şekil 4.8.** Kontrol grubunda gözlenen kök hücreler, 10X büyütmede (A) ve 20X büyütmede (B) okla gösterilmiştir. 31
- Şekil 4.9.** Kontrol grubunda 63X büyütmede uç taraflardaki kök hücreler okla gösterilmiştir. 32
- Şekil 4.10.** Kontrol grubunda 40X büyütmede uç taraflarda kök hücreler (Siyah ok) görülmektedir, ama dokunun genelinde inaktif fibroblastlar bulunmaktadır (Kırmızı ok). 33
- Şekil 4.11.** Kontrol grubunda 20X büyütmede inaktif fibroblastlar görülmektedir. 33
- Şekil 4.12.** Tavşanların ÖÇB dokularının ligaman ve damar yüzdelerinin dağılımı. Ç: Çalışma grubu, K: Kontrol grubu. 35

**TABLÖLAR****Sayfa**

<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma ve kontrol grubunda ölçülen ÖÇB damar ve ligaman hacimleri.	34
---	----

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönemlerde spora yönelimin artması sonucu spor yaralanmalarıyla da sıklıkla karşılaşmaktayız. Diz eklemi, en sık yaralanan eklemlerdendir. Diz yaralanmaları; bağ yaralanması, kıkırdak hasarı ve menisküs yaralanması şeklinde karşımıza çıkmaktadır.

Ön çapraz bağ (ÖÇB), diz ekleminde esas olarak ön-arka yönde stabilizasyon sağlamakta, aynı zamanda rotasyonel stabiliteye de yardımcı olmaktadır. Bu nedenle ön çapraz bağ yaralanmalarında, özellikle genç ve aktif hastalarda erken dönemde dizde instabilite ve ağrı meydana gelmektedir. Geç dönemde ise kıkırdak hasarı ve eklem dejenerasyonu oluşmaktadır (1-3). Bu nedenle ön çapraz bağ rüptürleri, genç ve aktif hastalarda tamir gerektirmektedir (4).

Günümüzde tedavide rutin olarak rekonstrüksiyon uygulanmaktadır. Fakat rekonstrüksiyon sonucunda kıkırdak lezyonları ve osteoartrit engellenememektedir (4). Bunun sebebi olarak ön çapraz bağ çıkarılırken dizin pozisyon duyusunda görev alan reseptörlerin kaybedilmesi olduğu düşünülmektedir (5-8). Bu nedenle ÖÇB'nin iyileşmesinin sağlanması veya desteklenmesi önerilmektedir (9, 10).

Yapılan son çalışmalarda büyüme faktörlerinin fibroblast bölünmesini uyarmada önemli bir rolünün olduğu ve bağ iyileşmesinde etkili olabileceği gösterilmiştir (11, 12). Bu çalışmada, akut ÖÇB yaralanmasında epidermal büyüme faktörü kullanımının bağ iyileşmesi üzerine etkisinin incelenmesi planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Ön çapraz bağı ilk anatomik tanımlamalarından birisine milattan önce 3000 yılına ait Mısır papiruslarında rastlanır. Hipokrat, ÖÇB yaralanmasına bağlı subluksasyonu tanımlamıştır. ÖÇB'nin "Ligamenta genu cruciate" olarak adlandırılması ise ilk kez Claudius Galen (129-199 M.Ö.) tarafından yapılmıştır (13, 14). 1845 yılında Amedee Bonnet, ÖÇB da dahil olmak üzere dizde bağ yaralanması kliniğini tarif etmiştir. Bundan 30 yıl sonra da Georgios Noulis, kadavralar üzerinde yaptığı çalışmalarda tibianın anterior subluksasyona zorlanmasının ÖÇB rüptürüne neden olabileceğini göstermiş, rüptür tanısında da günümüzde kullanılan Lachman testine benzer bir test tanımlamıştır. Radyografinin yaygınlaşmasıyla 1879'da Paul Segond, anterolateral tibial platoda küçük avülsiyon fraktürü (Segond fraktürü) olan hastalarda tipik olarak ÖÇB yırtığı olduğunu da göstermiştir (14).

ÖÇB yaralanmasının tanımlanmasıyla beraber ilk konservatif tedavi, 1850 yılında J. Stark tarafından immobilizasyon sağlanarak yapılmıştır. 1895'te ise M. Robson, primer sütün ile ilk ÖÇB onarımını gerçekleştirmiştir (15). Kenji Takagi 1918 yılında kadavrada diz eklemi bir sistoskop ile incelemiş ve 1931'de de ilk artroskopu geliştirmiştir. 1963 yılında Kenneth Jones, orta 1/3 patellar tendonu bağ replasmanında kullanarak intraartiküler onarım metodunu tanımlamıştır (16). Karbon fiber bağ kullanılarak artroskopik rekonstrüksiyon ise ilk kez 1981 yılında Dandy ve ark. tarafından yapılmıştır (17). Artroskopik yöntemlerin gelişmesiyle beraber de artroskopik onarımlar ön plana geçmiş ve günümüz ÖÇB onarım cerrahisinin temelleri oluşmuştur (18).

### 2.2. Embriyoloji

Ön çapraz bağı homojen artiküler interzondan ya da diz eklemi kapsülünden gelişmiş olduğu düşünülmektedir. Gebeliğin 8. haftasında her iki çapraz bağ oluşmaya başlamakta ve 14. haftasında da tüm diz yapıları gelişmektedir. Yapılan çalışmalarda, fetal ÖÇB dokusunun erişkinlere göre

daha hücresele ve vasküler bir yapıda olduğunu gösterilmiş, anteromedial (AM) bant ve posterolateral (PL) bantı ayıran bir septum varlığı da tanımlanmıştır (19).

### 2.3. Ön Çapraz Bağ Anatomisi

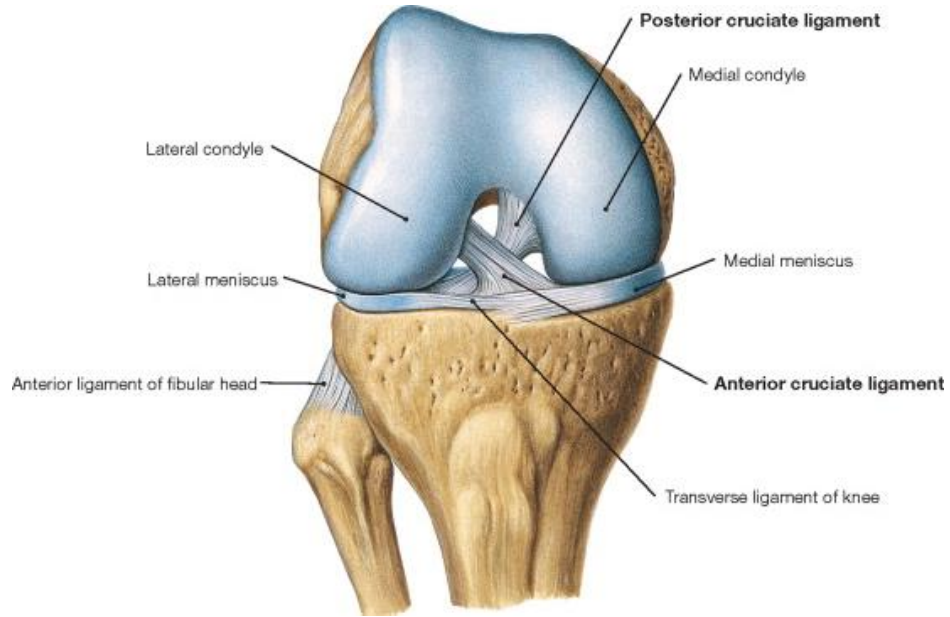
Çapraz bağların kuru ağırlıklarının dörtte üçünü, fibroblastları çevreleyen organize kollajen matris (%90'ı tip I, %10'u tip III kollajen) oluşturmaktadır. 150-250 nm çapındaki kollojen fibriller, ligamanın uzun eksenini boyunca 1-20 µm çapında demetler meydana getirmektedir. Bu demetler, 150-200 µm çapındaki subfasikülleri oluşturmakta, subfasiküller de birleşerek fasikülleri meydana getirmektedir. Fasiküller helezonik bir şekilde femurdan tibiaya uzanarak bağı oluşturmaktadır (20, 21).

Çapraz bağlar, intraartiküler olarak bulunmalarına rağmen sinovyumla çevrili olduklarından ekstrasinovyal olarak kabul edilmektedirler. Tibiaya yapışma bölgelerine göre isimlendirilmektedirler. ÖÇB, lateral femoral kondilin medial yüzünün arkasından dairesel bir şekilde başlamaktadır. Anterior, distal ve medial yönde oblik bir şekilde tibiaya uzanmaktadır. Tibia eklem yüzünde, iç ve dış menisküslerin ön boynuzlarının tibiaya yapıştıkları noktaların arasına yapışmaktadır (Şekil 2.1). Bağın ortalama uzunluğu 38 (22-41) mm, genişliği 11 (7-12) mm'dir (19, 20, 22, 23).

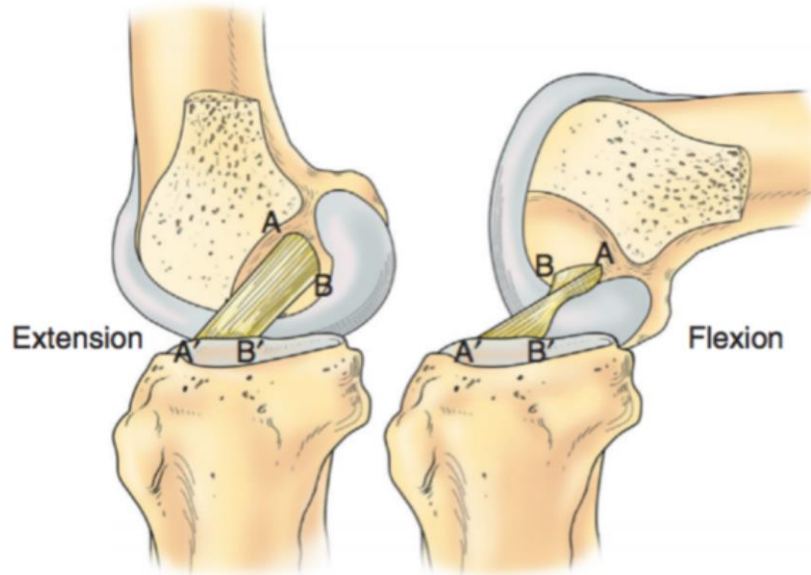
ÖÇB, AM ve PL bant olmak üzere iki fonksiyonel banttandır. İsimlendirilmeleri, tibial yapışma yerindeki rölatif anatomik pozisyonlarına göre yapılmaktadır. AM bant, femoral yapışma yerinin proksimalinden başlamakta ve tibiyal yapışma yerinin AM bölgesine uzanmaktadır. PL bant ise daha kalın ve kısa olup, femoral yapışma yerinin distalinden başlamakta ve tibiyal yapışma yerinin PL bölgesine uzanmaktadır. Diz fleksiyondayken AM bant gerilmekte, PL bant gevşemektedir; ekstansiyonda ise tam tersi olmaktadır (Şekil 2.2). PL bant ayrıca iç ve dış rotasyonlara dirençte önemli rol oynamaktadır (19, 20).

ÖÇB kanlanması esas olarak A. media genis tarafından olmakla beraber bağın distal kısmı A. inferior lateralis genis ve A. inferior medialis genis dallarından kanlanmaktadır. İnervasyonu ise tibial sinirin arka

dallarının sinovyal seviyede çapraz bağlara penetre olmasıyla gerçekleşmektedir (19, 20, 23, 24). Üzerinde tanımlanan çeşitli mekanoreseptörler ve serbest sinir uçları nedeniyle ÖÇB'nin proprioseptif fonksiyonda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (19, 20, 25).



**Şekil 2.1.** Ön çapraz bağın anatomik yerleşimi (26).



**Şekil 2.2.** Ön çapraz bağın, diz ekstansiyon ve fleksiyondayken görünümü.

A-A': Anteromedial bant, B-B': Posterolateral bant (22).



## 2.4. Biyomekanik Özellikler

Diz eklemi, bikondiler tipte bir eklemdir. Fleksiyona giderken femur ve tibia birbirine göre kayma ve yuvarlanma hareketini göstermektedir. Bu sayede dar bir hacim içinde geniş açısal sınırlarla hareket sağlanabilmektedir. Çapraz bağlar, eklem stabilizatörleri ve dönme hareketi etrafındaki eksenler olarak görev yapmaktadır (21, 23).

ÖÇB, dizi stabilize eden dört ana bağdan biridir. Tibianın femura göre öne doğru hareketi esnasında eklem içinde oluşan kuvvetin %75-85'ini karşılamakta ve 30°'lik fleksiyonda tibianın femur üzerinde 5-8 mm öne kaymasına izin vermektedir. ÖÇB yetmezliği durumunda iç menisküs arka boynuzu, iç yan bağ ve posteromedial kapsül; fleksiyundayken bu harekete karşı koyan ikincil stabilizörler olarak görev yapmaktadır (21, 27).

ÖÇB'in bir diğer fonksiyonu da "screw home" mekanizmasında oynadığı roldür. ÖÇB; dizin fleksiyonu 90° iken gerilmekte, 30-40° iken gevşemekte ve fleksiyon daha da azaldıkça hızla gerilmektedir. Bu sayede fleksiyonda tibia iç rotasyonu, ekstansiyonda ise tibia dış rotasyonu gözlenmektedir. Bu mekanizmada lateral femoral kondilin yarıçapının, medialden büyük olması da rol almaktadır (21).

## 2.5. Ön Çapraz Bağ Yaralanmaları

Diz yaralanmalarının %40-50'si ÖÇB ile ilişkilidir. Gerçek insidansı bilinmese de Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 200.000 ÖÇB yaralanması olduğu düşünülmektedir ve yılda 100.000 ÖÇB rekonstrüksiyonu yapılmaktadır (23). Son 20 yılda ÖÇB tedavisi üzerinde çok durulmuş ve çok sayıda çalışma yayınlanmıştır.

### 2.5.1. Anamnez ve Fizik Muayene

ÖÇB yaralanmaları genellikle aniden yavaşlama, zıplama (yere inme) ve yön değiştirme manevraları sonrasında görülebilmektedir. Özellikle kayak, futbol, basketbol ve amerikan futbolu gibi sporlarda sıkça karşımıza çıkabilmektedir. Ekstansiyodayken dize iç rotasyon ve valgus kuvvetlerinin

beraber uygulanması, ÖÇB üzerinde yüksek bir stres meydana getirmekte ve yaralanmanın temel mekanizmasını oluşturmaktadır (23, 28) .

Hastalar genellikle dizde “pop” sesi duymakta ya da hissetmektedirler. Yaralanma sonrası yere düşmekte ve hemen ayağa kalkamamaktadırlar. Dizde boşalma, emniyetsizlik hissedilmektedir. Birkaç saat içinde hemartroza bağlı dizde şişme görülebilmektedir (23, 24, 28-30).

Palpasyonda hemartroz ve inflamasyona bağlı ısı artışı, efüzyon, krepitasyon ve lokal hassasiyet saptanabilmektedir. Hastaların büyük çoğunluğunda eklemde hareketlerinde kısıtlılık mevcuttur (28).

Lachman testinin, ÖÇB (özellikle PL bant) hasarını göstermede duyarlılığı yüksektir. Hasta sırtüstü pozisyondayken incelenecek diz tam ekstansiyon ile 30° fleksiyon arasında tutulmaktadır. Bir elle femur stabilize edilirken diğer elle tibia öne doğru çekilmektedir. Artmış translasyon ve yumuşak bir son hissini olması ile test pozitif olarak kabul edilmektedir (23, 31) (Şekil 2.3).

Ön çekmece testinde hasta sırtüstü pozisyondayken diz 90°, kalça 45° fleksiyona alınmaktadır. Ayak tabanı masaya degecek şekilde tutulmakta ve muayene eden kişi hastanın ayağının üzerine oturmaktadır. Her iki elle tibia tutulmakta, hamstring kaslarının gevşek olduğundan emin olunarak tibia öne doğru çekilmektedir. Öne yer değiştirme 6 mm'den daha fazlaysa test pozitif olarak kabul edilmektedir. ÖÇB hasarını, özellikle de AM bant hasarını gösterebilmektedir (23, 31) (Şekil 2.4.). Testin duyarlılığı ve özgüllüğü Lachman testine göre daha düşüktür (28).

Pivot shift testi, iç ve dış rotasyonda yapılabilir. İç rotasyonda Pivot Shift testinde; hasta supin pozisyondayken kalça 30° fleksiyon ve abduksiyona, diz de ekstansiyona alınmaktadır. Bir elle hastanın ayağı tutulurken diğer elle krurise iç rotasyon uygulanmaktadır. Sublükse hale gelen tibia, diz fleksiyona getirilirken redükte olmakta ve bir atlama hissedilmektedir. Dış rotasyonda Pivot Shift testinde ise; kruris dış rotasyonda, dize valgus ve hafif fleksiyon verilmekte ve diz anterolaterale sublükse edilmektedir, fleksiyonda ise redüksiyon

sağlanmaktadır (Şekil 2.5). Tüm bu testler genel anestezi altında tekrar edilmelidir (24).



**Şekil 2.3.** Lachman testi (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi [HÜTF], Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).



**Şekil 2.4.** Ön çekmece testi (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).

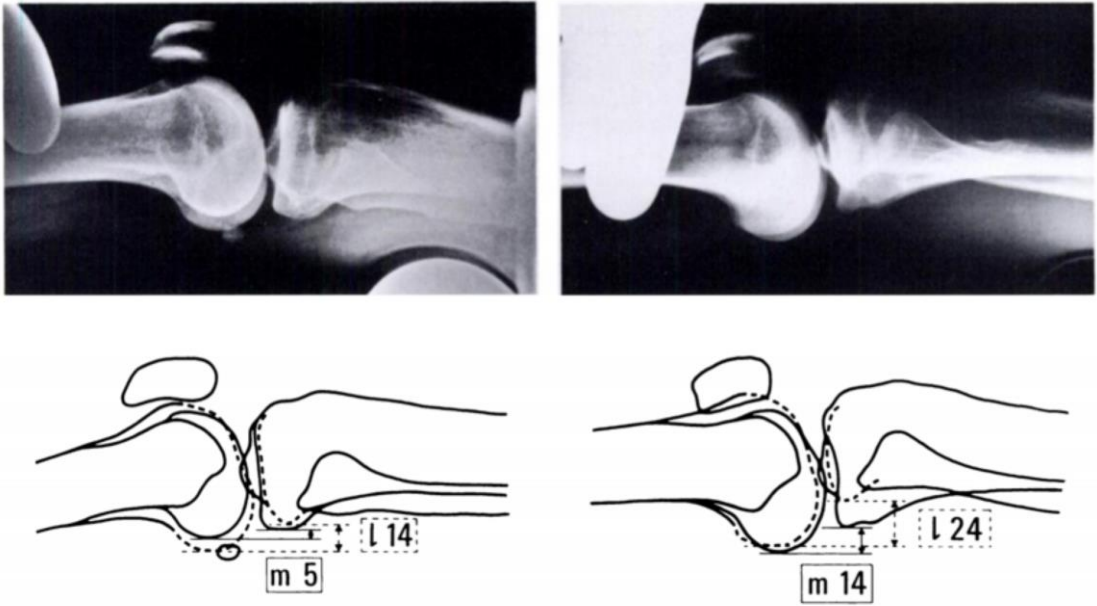


**Şekil 2.5.** Pivot shift testi (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).

### 2.5.2. Görüntüleme

Direkt grafi, genellikle normal olarak saptanmaktadır. Tibial eminensiya kırığının görülmesi, ÖÇB tibial yapışma yerinin avülziyonunu göstermektedir. Segond fraktürü (lateral kemik-kapsül avülziyon kırığı), ÖÇB yırtığında gözlenen asıl bulgudur (23, 28). Radyolojik kriter; Pivot Shift testinin uygulanması sırasında lateral femoral/tibial kondiller arasındaki mesafenin yan grafide skalada milimetrik olarak ölçülmesiyle belirlenmektedir (Şekil 2.6) (24, 32).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), ÖÇB yaralanma tanısında altın standarttır. Ligamentöz yapıda devamlılığın kaybı ve sinyal artışı görülmektedir. MRG ile dizin diğer yapıları da değerlendirilebilmektedir (23, 28).



**Şekil 2.6.** Lateral ve medial radyografik deplasmanın ölçümü (32).

### 2.5.3. ÖÇB Yırtığına Eşlik Eden Diğer Yaralanmalar

ÖÇB, komşu yapılarla sinerji içinde işlev görmektedir. ÖÇB yaralanmaları tek başına görülebildiği gibi dizin diğer yapılarının hasarıyla beraber de görülebilmektedir (33, 34).

Kıkırdak hasarı, lateral veya medial menisküs yırtığı; ÖÇB yırtığına eşlik edebilmektedir. ÖÇB yırtığı durumunda rekonstrüksiyona rağmen erken gonartroz riski de bulunmaktadır, menisküs hasarıyla beraber olduğu durumda risk artmaktadır (2, 35).

Özellikle dizde dış rotasyon, hafif fleksiyon ve valgus stres durumunda ÖÇB ile beraber medial kollateral bağ (MKB) hasarı da sıklıkla görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, diz bağ yaralanmalarının yaklaşık %20'sinde ÖÇB ve MKB yırtığının birlikteliği bildirilmiştir (36, 37). Medial kapsüloligamentöz disfonksiyonu, diz biyomekaniğini değiştirmekte ve ÖÇB rekonstrüksiyon bütünlüğünü tehlikeye atıp başarısızlık riskini arttırmaktadır. Diz rehabilitasyon programı planlanırken ÖÇB-MKB fonksiyonel ilişkisi ve menisküs-eklem kıkırdak sağlığı üzerine etkisi göz önünde bulundurulmalıdır (33).

ÖÇB ile beraber nadiren arka çapraz bağ (AÇB) ve lateral kollateral bağ yaralanması da görülebilmektedir, ciddi fonksiyonel instabiliteye neden olmaktadır. Eşzamanlı olan ÖÇB/AÇB yırtığına genellikle MKB veya posterior lateral kompleks hasarı da eşlik edebilmektedir (38, 39).

#### **2.5.4. Tedavi**

ÖÇB yırtığında kullanılabilir tedavi seçenekleri; konservatif tedavi, ÖÇB onarımı ve otogreft, allogreft dokular veya sentetik materyallerle rekonstrüksiyondur (23). Son 20 yılda yayınlanan çalışmaların büyük çoğunluğunda cerrahi tedavinin akut ÖÇB yırtığı tedavisinde geçerli yöntem olduğu belirtilse de bazı yayınlarda tedavi sonuçları arasında fark olmadığı ve cerrahi yaklaşımda daha yüksek osteoartrit riski olduğu bildirilmiştir. Hastanın yaşı, kliniği, tedaviye uyumu, ek yaralanma durumu olup olmadığı, beklenen aktivite düzeyi gibi faktörlere göre tedavi seçimi yapılmalıdır (15).

##### **2.5.4.1. Konservatif Tedavi**

Klinik semptomları daha hafif olan, ilave bir yapısal hasarı olmayan, düşük spor aktivitesi olan, tedavi uyumu iyi olan ve cerrahi tedavi istemeyen hastalarda konservatif tedavi uygulanabilmektedir (15, 40).

Konservatif yaklaşım seçilen hastalarda yoğun bir rehabilitasyon programı uygulanmalıdır. Yaralanmanın akut fazında hareket aralığının tekrar kazanılması ve inflamasyonun kontrol altına alınması amaçlanmaktadır. Hasta bacağı üzerine kısmi yük vererek mobilize olabilmektedir. Antiinflamatuvar ilaçlar kullanılabilir. İyileşme fazında yani üç ile altıncı hafta arasında, alt ekstremitenin kas kuvvetinin ve fonksiyonel stabilitesinin iyileştirilmesi hedeflenmektedir. Bu fazda hasta, bacağı üzerine tam yük vererek mobilize edilebilmektedir. Fonksiyonel fazda yani altıncı haftadan sonra da önceki fiziksel aktiviteye dönüş ve tekrar yaralanma riskinin azaltılması amaçlanmıştır (15, 41). Fonksiyonel diz breysi kullanımı tartışmalıdır. Hasta yüksek aktivite düzeyindeki spora döndüğü takdirde tekrar yaralanma insidansını anlamlı olarak düşürdüğü gösterilememiştir (23). Atletlerde yapılan çalışmalarda ÖÇB yırtığında

konservatif tedavi uygulanmasının tekrarlayan instabilite ve menisküs hasarına yol açabildiği bildirilmiştir. Bu nedenle konservatif tedavi, fiziksel aktivitesi yüksek olan hastalarda tercih edilmemelidir (28, 42). 40 yaşın üzerindeki hastalarda konservatif tedavi sonuçları iyi olsa da bu hastaların önceki fiziksel aktivite düzeylerine ulaşması beklenmemektedir (28).

#### **2.5.4.2. Cerrahi Tedavi**

ÖÇB hasarı tedavilerinde seçilebilecek cerrahi tedaviler, primer onarım veya rekonstrüksiyondur (23).

Primer onarım yani ÖÇB sutürü tek başına uygulanabileceği gibi diğer bağ yapılarının onarımıyla beraber ya da onarımın başka yapılar (intraartiküler/ekstraartiküler) kullanılarak artırılmasıyla uygulanabilmektedir (43). Lezyonun proksimal veya distalde olduğu durumlarda kullanılabilmeyle beraber genellikle standart teknik olarak önerilmemektedir (44).

ÖÇB tam kat yırtıklarının güncel tedavisi artroskopi eşliğinde rekonstrüksiyondur. Artroskopik yaklaşımın avantajları; daha küçük deri ve kapsül insizyonunun olması, ekstansör mekanizmanın daha az travmaya uğraması, tünel yerleşiminin planlanması açısından interkondiler çentiğin daha iyi görülmesi, operasyon sonrası daha az ağrı olması, daha az yapışıklık olması, daha erken harekete başlanabilmesi ve rehabilitasyonun daha kolay olmasıdır (45).

Artroskopik rekonstrüksiyon işlemi için hasta supin pozisyona alınmaktadır. Prosedüre başlamadan önce diz anestezi altında muayene edilmelidir. Hasarlı dizde “Lachman”, “pivot shift” ve ön çekmece testlerinin pozitif saptanması, ÖÇB yırtığının klinik kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Karşılaştırmak için ve normal laksite düzeyine karar vermek için sağlam dizde de aynı testler uygulanmalıdır. Hasarlı taraftaki uyluğa turnike uygulanması ve steril örtme ile cerrahi işleme hazırlanılmaktadır (45-47).

Öncelikle tanısal artroskopi yapılmalıdır. Standart lateral portalden artroskop ile girilmektedir. ÖÇB yırtığı görülerek tanı doğrulanmaktadır. Bununla beraber suprapatellar poş, patellofemoral eklem, medial ve lateral gutter, medial ve lateral kompartmanlar ve interkondiler çentik dahil dizin

diğer yapıları da incelenmektedir (47). Bu aşamada gerekirse menisküs onarımı ya da rezeksiyonu da yapılabilir. Sonrasında tanısal artroskopi işlemi sonlandırılmakta ve greft hazırlığı yapılmaktadır (46).

Rekonstrüksiyonda otogreft, allogreft veya sentetik greftler kullanılabilir. ÖÇB rekonstrüksiyonunda kullanılacak ideal greftin; ÖÇB kompleks anatomisinin yerine geçebilmesi, aynı biyomekanik özellikleri sağlayabilmesi, güçlü ve güvenli bir fiksasyon ile hızlı biyolojik birleşme oluşturması ve donör yeri morbiditesinin minimal olması gerekmektedir (48). Allogreftlere kıyasla otogreft kullanımı; daha az aseptik revizyon oranı, daha hızlı birleşme, daha az maliyet ve daha az immünolojik reaksiyonlarla ilişkilidir. Otogreft olarak kemik-patellar tendon-kemik (“bone-patellar tendon-bone”, BPTB), hamstring, kuadriseps, tibialis posterior veya aşil tendonu tercih edilebilir. En sık BPTB kullanılmakta ve altın standart olarak kabul edilmektedir (49). Özellikle yüksek aktivite düzeyi olan hastalarda BPTB tercih edilmelidir. Daha düşük aktivite düzeyi olan veya yaşlı hastalarda hamstring tendon grefti de tercih edilebilir. Yaşlı, artrit bulguları olan ve kendi dokusunun kullanılmasını istemeyen hastalarda allogreft de kullanılabilir. Sentetik greftler günümüzde kullanılmamaktadır (48).

Greft hazırlandıktan sonra patellar tendon medialinden ikinci bir portal açılmaktadır. ÖÇB'nin kalan yapıları temizlenmektedir. Medial portalden yerleştirilen burr ile interkondüler çentik lateral duvarı regülarize edilmektedir (46). Femoral ve tibial tüneller açılmaktadır. Tünellerin yerleşim yeri, klinik sonuçları etkilemektedir. Greftin gerginliğinde artışı ve dolayısıyla diz fleksiyonunda kısıtlılığı, greft “impingement”ını, diz ekstansiyonunu kısıtlayacak “cyclops” lezyonunu, sonuç olarak da erken başarısızlığı önlemek için tünellerin fazla anteriora yerleşiminden kaçınılmalıdır (43, 46). Kılavuz telinin arkasındaki halkaya greftin bir ucundaki sütürler “loop” yapılarak geçirilmektedir. Eğer femoral tünel transtibial olarak açıldıysa, kılavuz teli tibial ve femoral tünellerden geçirilerek greft yerleştirilmektedir. Eğer femoral tünel anteromedial portalden açıldıysa da greft yerleştirmek için kılavuz tel femoral tünele yerleştirilmektedir. Tibial tünelden girilen bir prob



yardımıyla da greftin distal ucundaki sütürler dışarı alınmaktadır. Bu işlemin ardından greftler fikse edilmekte ve prosedür sonlandırılmaktadır (28).

Cerrahinin zamanlaması konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır. Artmış artrofibrozis riski ve dizde tam eklem hareket açıklığının sağlanmasındaki zorluk nedeniyle yaralanma sonrası erken dönemde rekonstrüksiyon önerilmemektedir (43). Cerrahi zamanına karar vermede yaralanma süresinden çok cerrahi öncesi dizin durumu daha önemlidir. Başarılı bir ÖÇB rekonstrüksiyon için kriterler; dizde şişliğin minimal olması veya hiç olmaması, bacak kontrolünün iyi olması, hiperekstansiyon dahil eklem hareket açıklığının tam olmasıdır (46).

### **2.5.5. ÖÇB İyileşmesinde Etkili Biyolojik Ajanlar**

Büyüme proteinleri ve biyoaktif proteinler; hücre proliferasyonu, kemotaksisi, göçü, diferansiyasyonu ve ekstraselüler matriks üretimi üzerine olan önemli etkileriyle doku onarımında rol oynamaktadır. Bu nedenle ÖÇB yırtığı tedavisinde, diğer tedavi yöntemlerine ek olarak kullanılması araştırılmaktadır (50).

#### **2.5.5.1. Trombositten Zengin Plazma**

Trombositten zengin plazma ("Platelet rich plasma", PRP), hastadan alınan tam kanın birtakım işlemlere tabi tutulmasıyla elde edilmektedir. Trombositlerde bulunan alfa granüllerin içindeki büyüme faktörlerinin ("growth factor", GF) yara iyileşmesini olumlu şekilde etkilemesinden yola çıkılmıştır. Alfa granüllerin içinde birçok GF bulunmaktadır. Bunlardan yara iyileşmesinde ön plana çıkanlar; "platelet derived growth faktör" (PDGF), "transforming growth factor beta1" (TGF- $\beta$ 1), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-I), platelet faktör-4 (PF-4), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF)'dür (51, 52). Platelet konsantrasyonunu artırınca büyüme faktörlerinde lineer bir artış olduğu bildirilmiştir (51). ÖÇB ve diğer bağ yaralanmalarında kullanımının iyileşmeye pozitif etkisi olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (53, 54)

### **2.5.5.2. Epidermal Büyüme Faktörü ve Diğer Büyüme Faktörleri**

İnsan epidermal büyüme faktörü ailesinde; EGF, TGF-  $\alpha$  ve amfiregülin bulunmaktadır (55).

EGF; böbrekler, tükürük bezleri ve lakrimal bezlerde üretilmektedir (56). Yara iyileşmesinin erken safhalarında fibronektin gibi proteinlerin üretimini arttırmakta ve epitel hücre göçünü uyarmaktadır. Hücre proliferasyonunu arttırmakta ve diferansiyasyonunu etkilemektedir (55, 57). EGF'nin fibroblastların çoğalmasında kollajen üretimini arttırmadan sağladığı düşünülmüştür ancak Marui ve ark.'ın yaptığı çalışmada kollajen oluşumu da gösterilmiştir (58). Büyüme faktörlerinin ÖÇB ve MKB'den kültüre edilmiş fibroblastlar üzerinde kollajen-kollajen dışı protein sentezine etkisini incelemişlerdir. TGF- $\beta$ 1'in ÖÇB ve MKB fibroblastlarında kollajen ve kollajen dışı protein sentezini, EGF'nin de bazı dozlarında ÖÇB fibroblastlarında kollajen sentezini anlamlı olarak arttırdığını bildirmişlerdir. İn vivo olarak anjiogenezi uyardığı bilinen EGF ile yapılan klinik çalışmalarda; EGF'nin gümüş sülfadiazin içine konularak yaralara uygulandığında, epitelizasyonu artırdığı ve iyileşme süresinde istatistiksel olarak anlamlı azalma oluşturduğu bildirilmiştir (59). Foto-reaktif EGF ile insan ÖÇB hücre kültürü üzerinde yapılan bir çalışmada, verilen EGF miktarı arttıkça hücre proliferasyonunun da arttığı gösterilmiştir (60).

TGF- $\beta$ ; birçok parankimal hücreden ve lenfosit, monosit/makroraj, platelet gibi infiltre edici hücrelerden salınmaktadır (61). PDGF; platelet, makrofaj, vasküler endotel ve fibroblastlardan sentezlenmektedir. Fibroblastların, düz kas hücreleri ve inflamatuvar hücreler üzerinde potent kemoatraktan ve mitojenik etkisi vardır. FGF; fibroblastlardan, endotel hücrelerinden, düz kas hücrelerinden ve kondrositlerden sentezlenmektedir (56). VEGF; makrofajlardan, trombositlerden, keratinositlerden, renal mezenseyal hücrelerden ve tümör hücrelerinden sentezlenebilmektedir (62). IGF; karaciğer, kalp, akciğer, pankreas, beyin, kemik ve kas hücreleri tarafından üretilmektedir (56, 63).

TGF- $\beta$ 1, FGF-2, basic-FGF, IGF-1, VEGF; hücresel aktiviteyi düzenlemekte, bağ hücre proliferasyonunu, ekstraselüler matriks

depolanmasını arttırmakta ve mezenşimal kök hücre diferansiyasyonunu etkilemektedir. Özellikle EGF ve TGF- $\beta$ 1, mitogenezisi ve bağ fibroblastlarından kollajen ve total protein sentezini uyarmaktadır. VEGF, en kuvvetli anjiogenez uyarıcısıdır, endotelial hücreler üzerinde potent mitojenik aktivitesi vardır. Bu büyüme faktörlerinin ÖÇB iyileşmesinde gerekli olan biyolojik süreç üzerinde pozitif etkileri bulunmaktadır (11, 50, 52, 56, 57, 64-69).

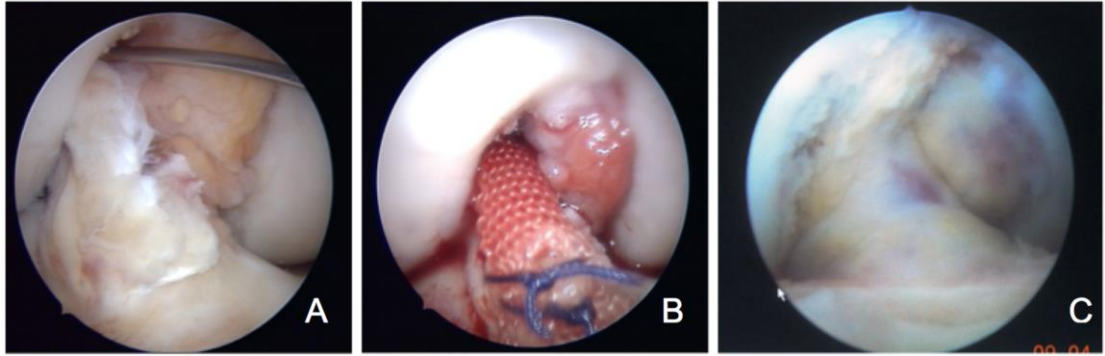
Murray ve ark., kollajen-glukozaminoglikan skafold üzerinde insan ÖÇB hücre kültürü yapmış ve büyüme faktörlerinin etkisini araştırmıştır (70). TGF- $\beta$ 1 verilen ve PDGF verilen gruplarda, hücre sayısında ve kollajen üretiminde artış saptamışlardır. TGF- $\beta$ 1 grubunda ayrıca skafold içinde düz kas aktin ekspresyonunda artış görülmüştür. FGF-2 ilave edilen grupta da kontrol grubuna göre hücre proliferasyonunun daha fazla olduğu ve skafold küçülme oranının daha az olduğu saptanmıştır. Kondo ve ark. yaptığı çalışmada da; tavşanlarda ÖÇB hasarında TGF- $\beta$ 1 uygulanmasının, biyomekanik ve histolojik iyileşmeye anlamlı olarak katkıda bulunduğu bildirilmiştir (71).

Büyüme faktörlerinin birlikte kullanılarak ÖÇB iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar da mevcuttur (69, 72). Yasuda ve ark.'ın yaptığı çalışmada; köpeklere kemik-patellar tendon-kemik grefti ile ÖÇB rekonstrüksiyonu uygulanmış, EGF ve TGF- $\beta$ 1'in beraber verilmesinin etkisi araştırılmıştır (72). 12. hafta sonunda büyüme faktörlerinin verildiği grupta femur-greft-tibia kompleksinin sertliği ve maksimum "failure load"u daha fazla bulunmuştur.

### **2.5.5.3. Hyaluronik Asit**

Hyaluronik asit; bağ doku ve sinovyal sıvıda yapısal rolünün olması dışında, hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantısına etki ederek hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu etkilemektedir (73). Biyolojik iyileşmede gerek paratenon, gerekse periost indükleyici özelliğinden dolayı bazı uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Yaklaşık 30 yıldan beri hyaluronik asitin tendon, ligament ve kıkırdak iyileşmesine olan katkısı dile

getirilmekte ve de bazı uzmanlar tarafından tercih edilmektedir (Şekil 2.7). Hyaluronik asit; psödartroz yani kaynama sorunu olan kırıkların tedavisinde, tendon, ligament ve de kas dokusu defektlerinde ve yaralanmalarında iyileşme fazını hızlandırmakta ve iyileşmeyi desteklemektedir (73-79). Hyaluronik asitin ÖÇB yırtığı tedavisinde kullanımı hakkında da çalışmalar mevcuttur. Wiig ve ark., tavşanlarda kısmi ÖÇB yırtığında hyaluronik asit enjeksiyonunun tip III kollojen oranını ve anjiogenezi arttırdığını, iyileşme alanında daha fazla fibroblast bulunduğunu saptamışlardır (73). Hyaluronik asit enjeksiyonunun iyileşmeye katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir.



**Şekil 2.7.** Kısmi ÖÇB yırtığı tedavisinde hyaluronik asit mesh kullanımı. A: Parsiyel ÖÇB yırtığının artroskopik görüntüsü, B: Hyaluronik asit mesh uygulanması, C: Operasyondan 1 yıl sonra kontrol artroskopik görüntüsü (HÜTF, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'ın izniyle arşivinden alınmıştır.).

#### **2.5.5.4. Mezenşimal Kök Hücreler**

Mezenşimal kök hücreler, çeşitli kaynaklardan üretilen yetişkin kök hücreleridir. Multipotenttir ve kendi kendini yenileme kapasitesine sahiptir. Kemik, kıkırdak, tendon, bağ gibi dokuların rejenerasyonunda gerekli olan fibroblast gibi hücrelere farklılaşabilmektedir. Perivasküler alanda bulunmaktadırlar (50, 52). ÖÇB yaralanmasında intraartiküler enjeksiyonla verildiğinde iyileşmede etkili olduğu bildirilmiştir (80, 81).

### 2.5.6. Bağ İyileşmesi

Tendon ve bağların primer matriks yapısı kollajendir. Normal tendon ve bağların kuru ağırlılığının yaklaşık %70-80'ini tip I kollajen oluşturmaktadır; bu dokuların sertliğini ve gúcünü sağlamaktadır (82). Kollajen lifleri arasında ana hücre tipi olarak, yoğun ve hiposelüler bir yapı oluşturacak fibroblastlar bulunmaktadır. Hipovasküler yapılarından ötürü diğer bağ dokularına kıyasla daha yavaş iyileşmektedirler (83).

Fibroblastlar, bağ dokusunda bulunan ve yapısal bütünlüğü sağlayan predominant stromal hücre tipidir. Kollajen sentezler ve yara iyileşmesinde önemli rolleri vardır. Aktif fibroblastlar, nükleusları oval-yuvarlak olan ve merkezi olarak yerleşmiş, iç veya yıldız şeklindeki hücrelerdir. Bu hücreler ve ekstraselüler matriks ürünleri; bağ dokularının sağlıklı durumunda, iyileşme sürecinde ve patolojik değişlik durumunda yapısal bütünlüklerinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Yoğun kollajen lif formasyonu olan alanlarda, ince düz/dalgalı nükleuslu uzamış hücreler yani inaktif fibroblastlar şeklinde morfoloji değiştirmektedirler (84).

ÖÇB yaralanmasında ince sinovyal kılıfın bütünlüğü bozulmaktadır. Kan sinovyal sıvıya yayılmakta, sitokin ve büyüme faktörlerinin sağlanması zorlaşmaktadır. Bununla beraber ÖÇB fibroblastlarının yapısı diğer bağlardan farklıdır. Kısmen daha az mobilite, düşük proliferasyon ve metabolik aktivite ve daha az matriks üretimi eğilimleri vardır. Bu nedenlerle ÖÇB'nin iyileşme kabiliyeti kısıtlıdır (82, 85).

Normal bağ sağlığı ve fonksiyonu için yeterli kan dolaşımının olması ve dolaşımdan hücre infiltrasyonunun olması gerekmektedir. Sinovya ve kemik gibi diğer vasküler dokulara kıyasla bağların vaskülaritesi daha azdır. Bağ yaralanmasında ilk hemorajik reaksiyon sonrasında çeşitli hücre tipleri yarada toplanmakta ve granülasyon dokusu oluşmaktadır. Bu süreçte neovaskülarizasyon önemlidir. Vasküler yanıt, iyileşmede belirleyici olarak kabul edilmektedir (86-88).

### 3. GEREÇ – YÖNTEM

Literatür incelendiğinde ÖÇB çalışmalarında tavşanların sıkça kullanıldığı görülmektedir (89-91). Tavşanlar arasında hayvan deneylerinde en çok kullanılan ırk, beyaz Yeni Zelanda tavşanlarıdır. Beyaz Yeni Zelanda tavşanlarının taksonomik sınıflandırılması; Animalia (Alem), Vertebrata (Şube), Mammalia (Sınıf), Lagomorpha (Takım), Leporidae (Familya), Pentalagus (Cins), Oryctolagus cuniculu (Tür) olacak şekilde yapılmaktadır.

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde yapılan "Araştırmacılar için Deney Hayvanları Kullanımına ait Eğitim Sertifikası Programı" tamamlanarak, 26/05/2014 tarihinde 253 belge no ile sertifika alınmıştır.

Çalışmamız için hayvan deneyleri etik kurul onayı, Karar No:2 olarak 28.11.2016 tarihinde, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Çalışmada, yaşları 9 ay-12 ay arasında, vücut ağırlıkları 3000-3500 gr arasında değişen 17 adet Yeni Zelanda beyaz tavşan denek olarak kullanılmıştır. Tavşanlar Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (ÇÜTF-DETAUM) temin edilmiştir. Bütün tavşanların vücut ağırlıkları ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Tavşanlar, 8'i kontrol grubu, 9'u çalışma grubunda olmak üzere randomize edilerek gruplandırılmıştır. Kontrol grubundaki tavşanların sol dizinde, çalışma grubundakilerin de sağ dizinde ÖÇB yırtık modeli oluşturulmuştur.

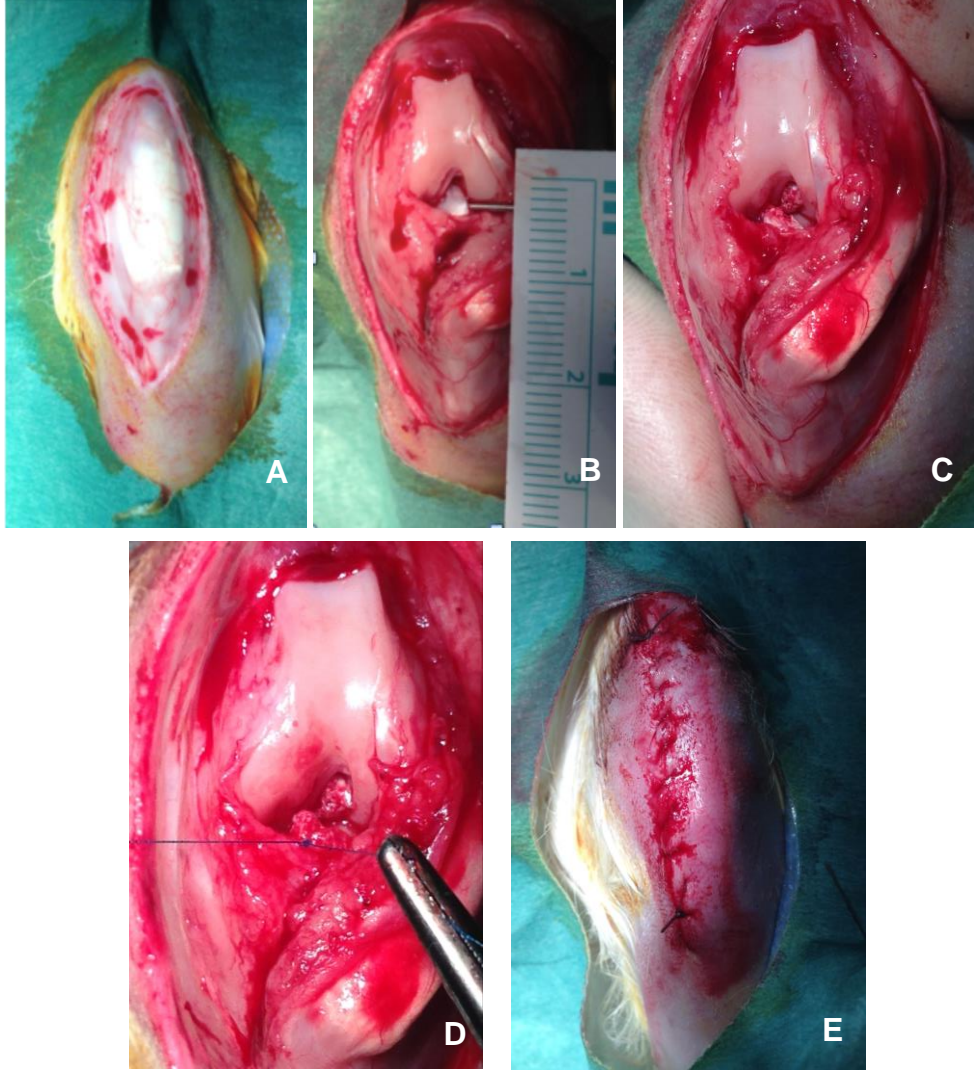
Cerrahi işlemler, ÇÜTF-DETAUM'de tek cerrah tarafından yapılmıştır.

Genel görünümünde, davranışlarında, kafes içi hareketlerinde, klinik bulgularında, besin ve su alımlarında ameliyata engel herhangi bir anormal durum saptanmayan tavşanlar, cerrahi işlemlerin yapılacağı sabah kafeslerinin bulunduğu ve takiplerinin yapıldığı odadan sırasıyla anestezi işlemlerinin yürütüldüğü odaya alınmışlardır. Tüm hayvanlara 20 mg/kg Sefazolin Sodyum I.M. antibiyotik profilaksisinin ardından 35mg/kg Ketamin HCL ve 5 mg/kg Ksilazin ile anestezi uygulanmıştır. Kornea refleksinin kaybolması ile yeterli düzeyde anestezi derinliğine ulaşıldığı anlaşılmıştır.

Tavşanların işlem yapılacak dizlerinin ön yüzleri dikkatli bir şekilde tıraş edilmiştir. Ardından işlem yapılacak ekstremitte, sıvı sabun solüsyonu olan %7,5 Polivinilprolidon-İyot kompleksi (Batticon®) ve % 0,9 İzotonik NaCl solüsyonu ile yıkanmıştır. Daha sonra tavşanlar cerrahi işlemin uygulanacağı odaya alınmıştır.

Tavşanların işlem yapılacak alt ekstremitesinde cerrahi saha, antiseptik solüsyonu olan % 10 Polivinilprolidon-İyot kompleksi (Batticon®) ile boyanmıştır. Daha sonra ameliyat masasına alınan tavşanlara, supin pozisyonu verilmiştir. Takiben steril cerrahi örtülerle örtüm sağlanmıştır.

Cerrahi saha sterilizasyonu sonrası işlem uygulanacak taraftaki patella palpe edilerek diz anteriorundan yaklaşık 4 cm uzunluğunda longitudinal cilt insizyonu ile girilmiştir. Cilt altı dokular keskin diseksiyon ile geçilmiş ve medial parapatellar yaklaşımla patella laterale devrilerek diz eklemine girilmiştir. Ardından ÖÇB görülerek orta bölgesinden tam kat kesi yapılarak yırtık modeli oluşturulmuştur. Tavşanların ÖÇB'lerinin distal parçasının kesi uçları, emilmeyen dikiş (4/0 Prolene, Polypropylene) ile sütür atılarak işaretlenmiştir (Şekil 3.1).

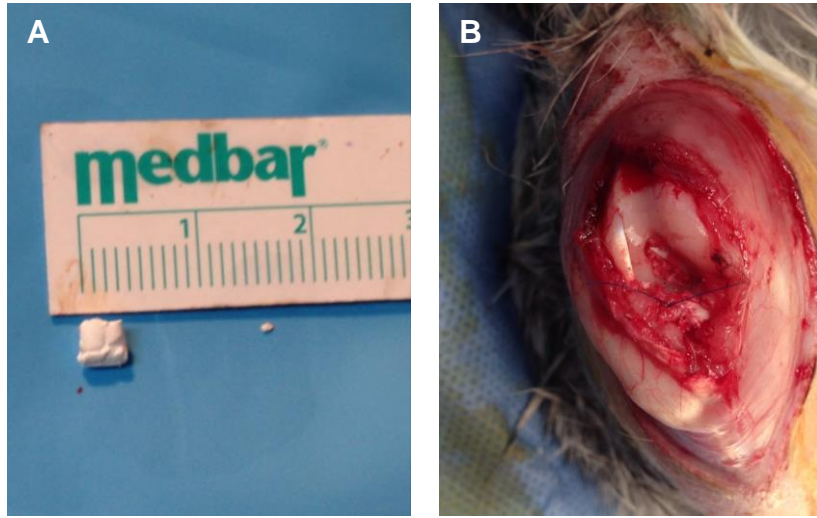


**Şekil 3.1.** ÖÇB yırtık modelinin oluşturulması. A: Diz üzerindeki cilt insizyonu, B: Diz eklem kapsülüne girilerek ÖÇB'nin ortaya çıkarılması, C: ÖÇB kesilmesi, D: ÖÇB distal parçası kesi ucunun sûtür ile işaretlenmesi, E: Eklem kapsülünün kapatılması.

Kontrol grubunda dize herhangi bir madde verilmeden Prolene® (3/0, Polypropylene) kullanılarak eklem kapsülü ve cilt kapatılmıştır.

Çalışma grubunda; 3x3 mm'lik standardize edilen, 15 µg insan rekombinant EGF (Heberprot-P®) yüklenmiş, poroz polikaprolakton köpük skafold, eklem aralığında interkondiler çentiğe yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Prolene® (3/0, Polypropylene) kullanılarak tüm tavşanların eklem kapsülü ve cilt kapatılmıştır.





**Şekil 3.2.** Çalışma grubunda kullanılan skafold (A) ve skafoldun diz eklem kapsülüne yerleştirilmesi (B).

Peroperatif komplikasyon izlenmemiştir. Postoperatif her iki alt ekstremitede, yapılan nörovasküler muayene doğal bulunmuştur. Operasyon sonrası tavşanların mobilizasyonunda kısıtlama yapılmamıştır. Cerrahi işlemi takiben tavşanların marjinal kulak venleri kullanılarak 15 mg/kg Parasetamol (Perfalgan®) I.V. olacak şekilde analjezi amacı ile uygulanmış olup antibiyotik ve analjezik uygulamaya postop. 2. güne kadar devam edilmiştir. Sonrasında ise tavşanlar, cerrahi işlemlerin yapıldığı odadan kafeslerinin bulunduğu odaya alınmışlardır. Tavşanların tamamının, postoperatif uyandıktan sonra kafeslerinin içinde hareketli olduğu gözlenmiştir. Opere edilen tüm tavşanların postoperatif 2. gün yaraları açılıp pansumanları yapılmıştır ve 2 gün aralıklarla 10 gün pansumanları yapılmıştır.

Postoperatif takiplerde kontrol grubundan 1, çalışma grubundan 4 olmak üzere toplam 5 tavşan ölmüştür.

Sekizinci haftada tavşanların marjinal kulak venleri kullanılarak 100 mg/kg Tiyopental sodyum (Pental Sodyum®) I.V. olacak verilerek ötenazi uygulanmıştır. Öldürülen tavşanların tümünde pansuman temiz bulunmuş, hiçbirinde enfeksiyon bulgusu (akıntı, kötü koku, dikişlerde açılma) saptanmamıştır. Aynı insizyondan tekrar cilt ve cilt altı geçilerek medial parapatellar yaklaşımla patella laterale devrilerek diz eklemine girilmiştir.

ÖÇB'lere işaretleme amacıyla konulmuş dikiş materyallerinin emilmediği görülmüştür. Bütün tavşanların ÖÇB'lerinin distal parçaları en blok halinde eksize edilmiştir.

ÖÇB'lerin histolojik incelenmesi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. ÖÇB distal parçaları çıkarıldıktan sonra doku örnekleri, tamponlanmış %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 48 saat süre ile fikse edilmiştir. Otomatik doku takip cihazında sırası ile alkol, ksilen ve parafinden geçirildikten sonra yatay pozisyonda olacak şekilde parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklara gömülen dokulardan mikrotom cihazı ile 5 mikron kalınlığında 100 adet seri kesit alınmıştır. Elde edilen seri kesitler, deparafinizasyon yapıldıktan sonra Masson's Trichrome ve Hematoxylin-Eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmek üzere hazırlanmıştır.

Bu deney için alınan kesitlerde sistematik rastgele örnekleme uygun bir şekilde 10'da bir örnekleme yapılarak bu kesitlerden StereoInvestigator® (MicroBrightfield) programında dokunun tamamının görüntüsü x10 büyütmede "virtual slice" kullanılarak alınmıştır. ÖÇB dokularının tahmini damar ve kollajen hacimleri; stereolojik bir yöntem olan Cavalieri hacim hesaplama yöntemiyle değerlendirilmiştir. Nokta sayım metoduyla hacim tahmini yapılan Cavalieri stereoloji metodu için Şekil 3.3'te gösterilen formül kullanılmıştır. İyileşme sürecinde kollajen fibril yapısı, fibroblastlar ve adiposit infiltrasyonu incelenmiştir.

$$\begin{aligned}
V &= \frac{1}{ssf} a_p \bar{i} \sum_{i=1}^n P_i & a_p &= g^2 \\
A &= \sum_{i=1}^n P_i P_i & B &= \sum_{i=1}^{n-1} P_i P_{i+1} & C &= \sum_{i=1}^{n-2} P_i P_{i+2} \\
\text{Var}_{\text{noise}} &= 0.0724 \cdot \left( \frac{b}{\sqrt{a}} \right) \sqrt{n \sum_{i=1}^n P_i} \\
\text{Var}_{\text{SURS}} &= \alpha_i (3 \cdot (A - \text{Var}_{\text{noise}}) - 4 \cdot B + C) \\
\alpha_0 &= \frac{1}{12} & \alpha_1 &= \frac{1}{240} \\
CE &= \frac{\sqrt{\text{Var}_{\text{SURS}} + \text{Var}_{\text{noise}}}}{\sum_{i=1}^n P_i}
\end{aligned}$$

**Şekil 3.3.** Cavalieri stereoloji metodu için kullanılan formül. V: Hacim, Ssf: Serial section fraction, A: Alan, SURS: Sistematik uniform rastgele örnekleme.

Tavşan dizinde yapılan cerrahi prosedür sonucu eşit miktarda bağ çıkarılmadığı için gruplar arasındaki bağ boyu farkını eşitlemek için 'hacim' adını verdiğimiz sayım yöntemi geliştirilmiştir. Böylece yüzdesel olarak yeni gelişen damarın bağ içerisindeki oranı saptanmıştır. Bu oranı saptamak için kullanılan formül;

$$\text{Bağ içi damar hacim oranı} = (Vv / (Vv + Lv)) \times 100$$

(Lv: Ligaman hacmi, Vv: Damar hacmi)

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 22 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiştir. Bağ içi damar hacim oranlarının normal dağılım göstermediği belirlenmiştir. Çalışma ve kontrol grupları, Mann-Whitney U testi kullanılarak bağ içi damar hacim oranları açısından karşılaştırılmıştır. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar olarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

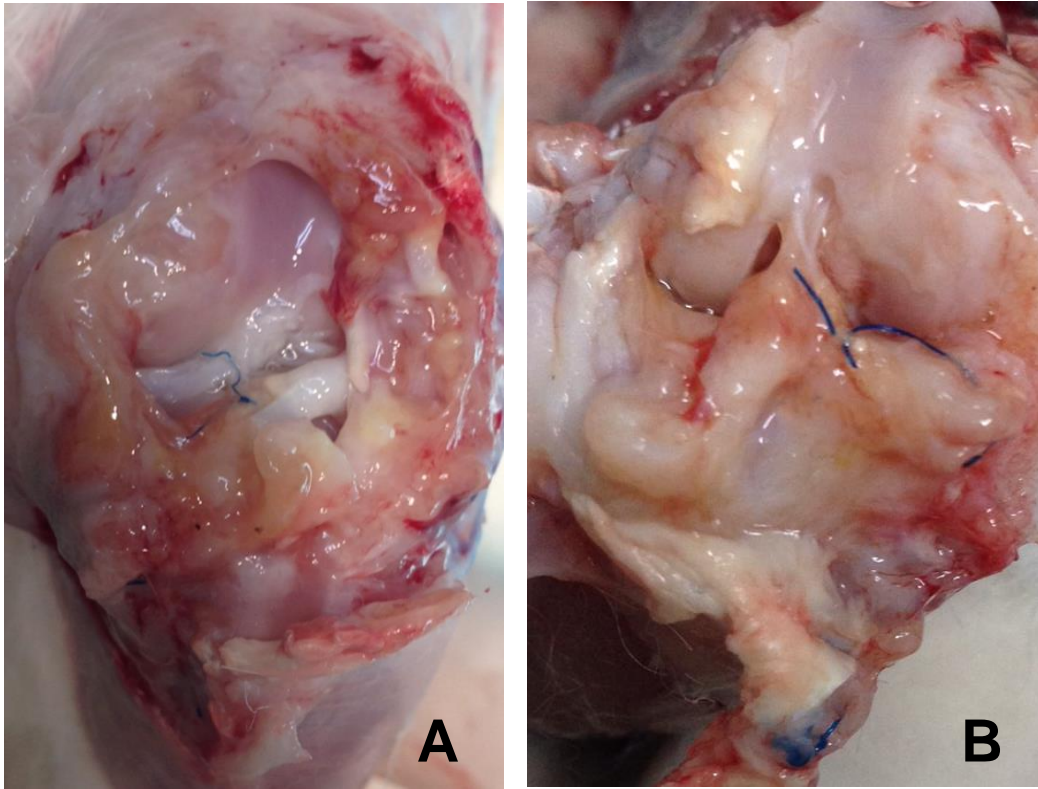
Çalışma grubundan 3, 4, 7 ve 9 numaralı tavşanlar, kontrol grubundan 5 numaralı tavşan öldüğü için çalışma dışı bırakıldı. Ölen tavşanlarda herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı. Toplam 12 tavşanın işlem yapılmış olan diz eklemindeki ÖÇB dokularının distal segmentleri inceleme için hazırlandı.

### 4.1. Makroskopik Gözlemler

Birer dizleri hasarlandıktan sonra tavşanlar sekizinci haftada öldürüldü. Tavşanların tümünde pansuman temiz bulundu, hiçbirinde enfeksiyon bulgusuna (akıntı, kötü koku, dikişlerde açılma) rastlanmadı.

Tavşanların işlem yapılmış olan diz eklemlerine girildiğinde ÖÇB'lere işaretleme amacıyla konulmuş dikiş materyallerinin emilmediği görüldü.

Diseksiyon sırasında yapılan gözlemlerde, her iki grupta da ÖÇB uçlarının çevre dokuya yapıştığı gözlemlendi. Çalışma grubundaki tavşanların ÖÇB'nin çıkarılan distal segmentinde, kontrol grubuna göre hacim artışı olduğu gözlemlendi. Ayrıca çalışma grubunda sinovyal hipertrofi olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1).

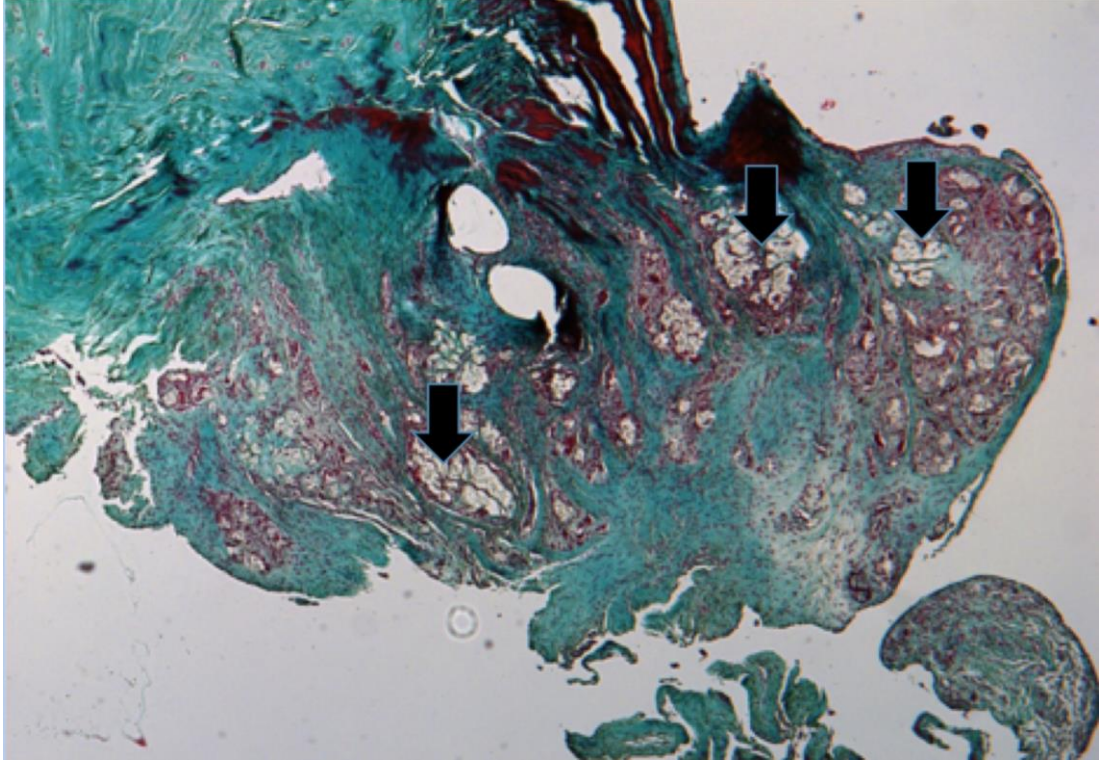


**Şekil 4.1.** Tavşanların öldürülmesi sonrasında ÖÇB'nin kontrol (A) ve çalışma (B) gruplarında görünümü.

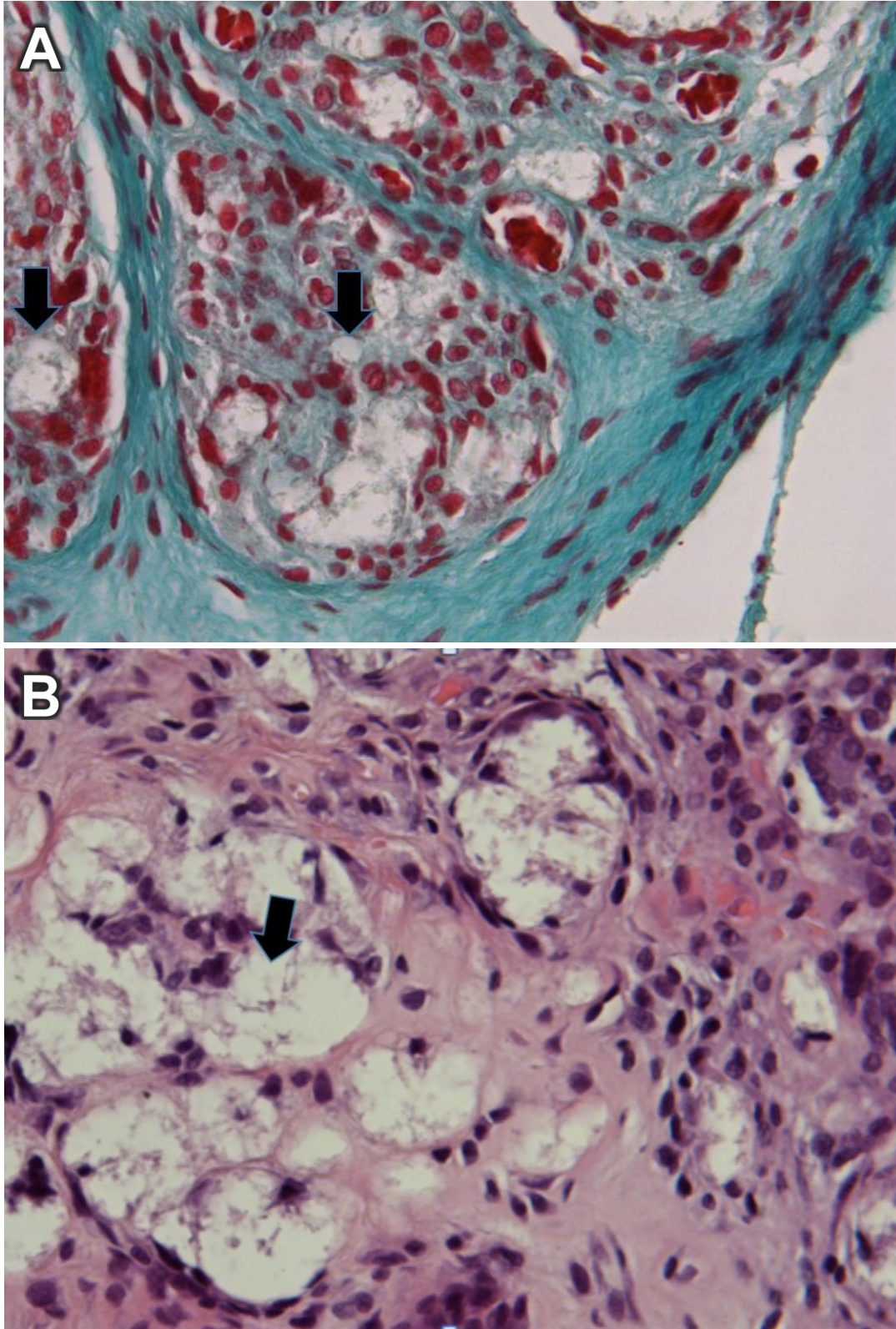
#### 4.2. Mikroskopik Bulgular

Tavşanların işlem yapılan dizlerinin ÖÇB dokularından kesitler alınarak mikroskopik inceleme yapıldı.

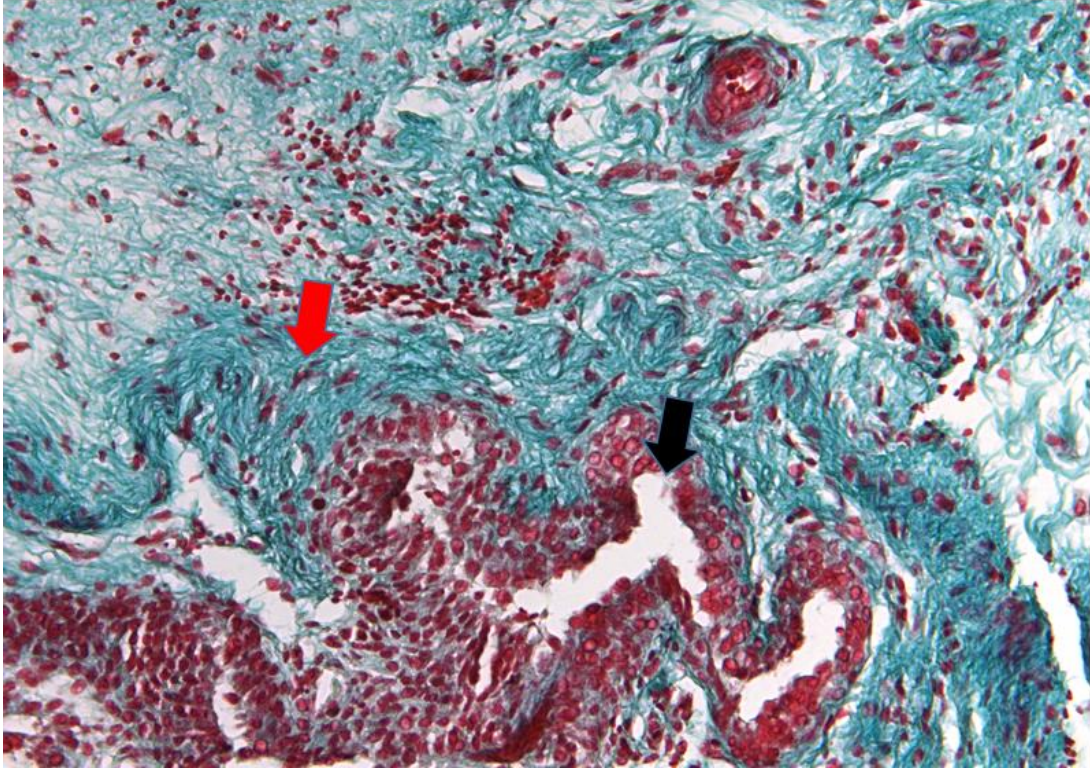
Çalışma grubundaki tavşanların ÖÇB dokusunda belirgin yeni damar formasyonunun yani angiogenezin olduğu görüldü (Şekil 4.2). Kesitlerde hem lümenleşme olmadan önceki evredeki damarlanmalar hem de damarlanmanın son aşamalarında lümen oluşumu gözlemlendi (Şekil 4.3). Perivasküler alanda aktif fibroblastlar ve yoğun kök hücre artışı gözlemlendi. Aktif fibroblastlar yeni oluşan damarların etrafında daha çok bulundu (Şekil 4.4) ve tip III kollajen sentezi bu bölgede tespit edildi (Şekil 4.5). Bunlara ek olarak EGF verilen grupta yağ hücreleri de görüldü (Şekil 4.6) .



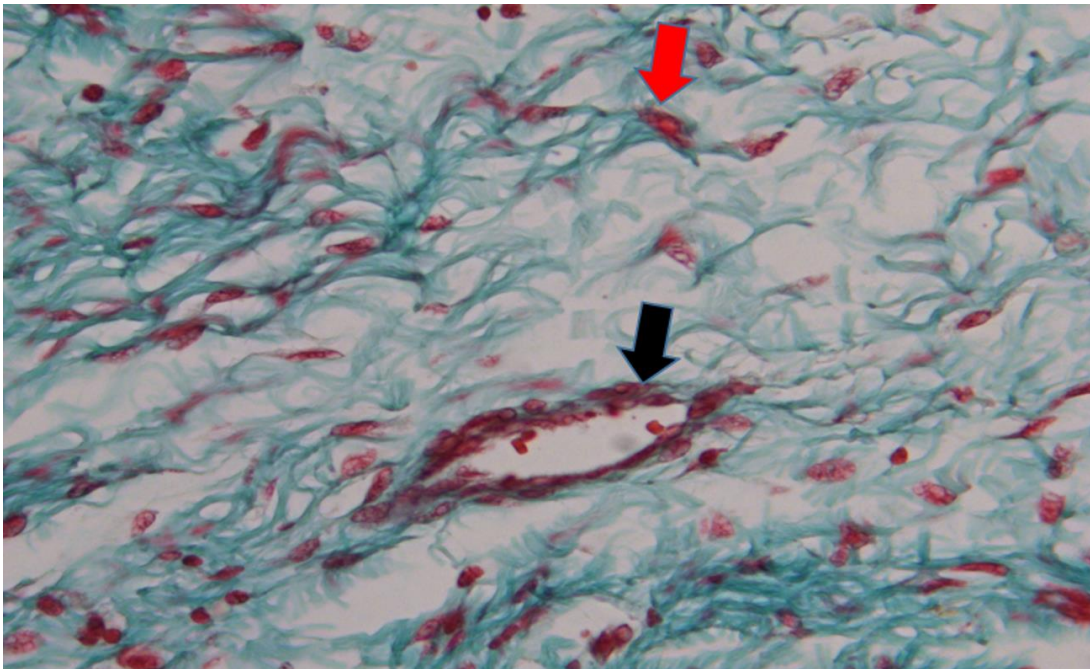
**Şekil 4.2.** 4X büyütmede çalışma grubunda damarlanma artışı genel olarak görülmektedir. Yeni damar oluşumları oklarla gösterilmiştir.



**Şekil 4.3.** Çalışma grubunda 40X büyütmede lümenleşme olmadan önceki evredeki damarlanma (A) ve damarlanmanın son aşamalarında lümen oluşumu (B) okla gösterilmiştir.

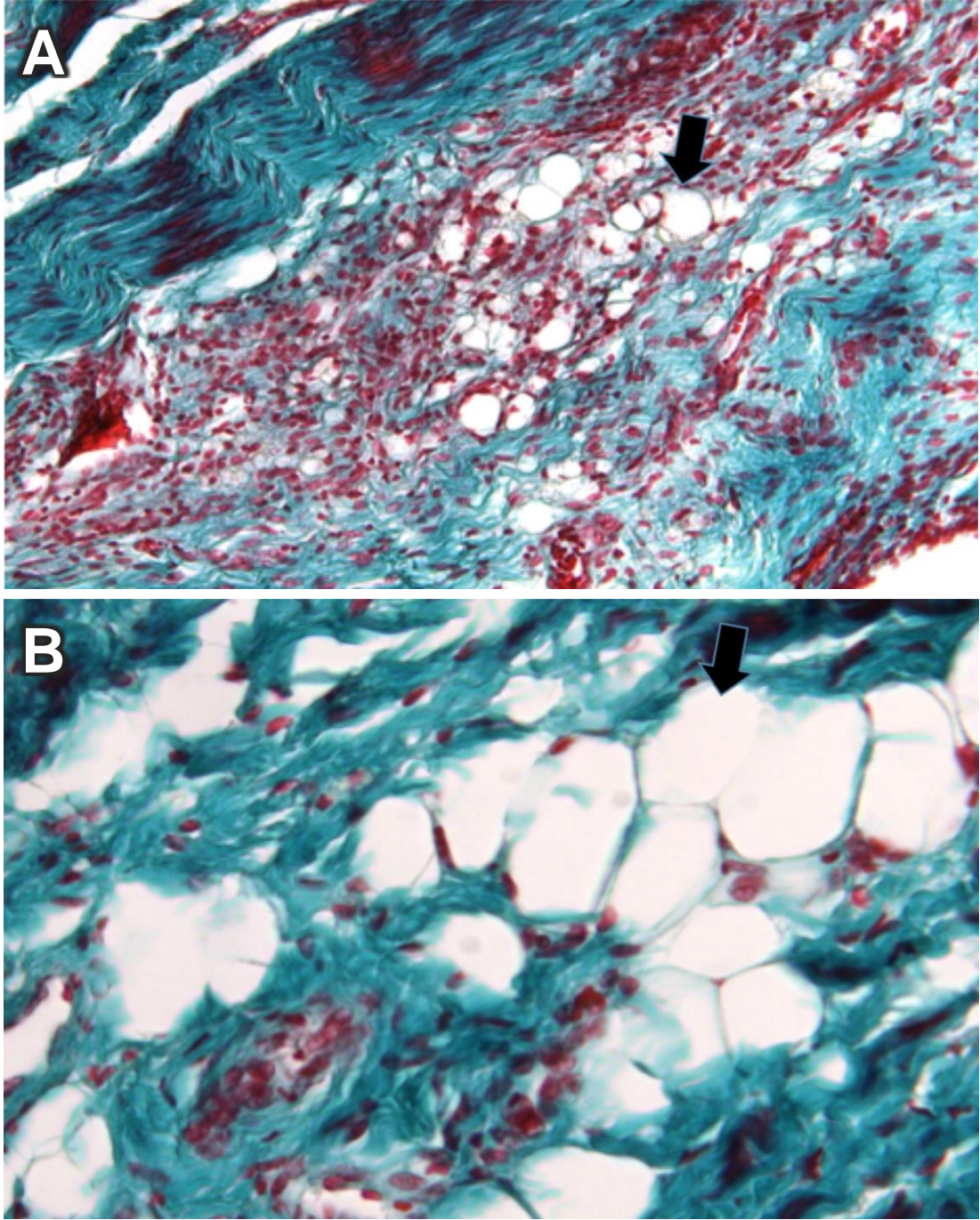


**Şekil 4.4.** 20X büyütmede çalışma grubunda büyük lümeni olan yeni oluşmuş bir damar (siyah ok) ve damarların etrafında aktif fibroblastlar (kırmızı ok) görülmektedir.



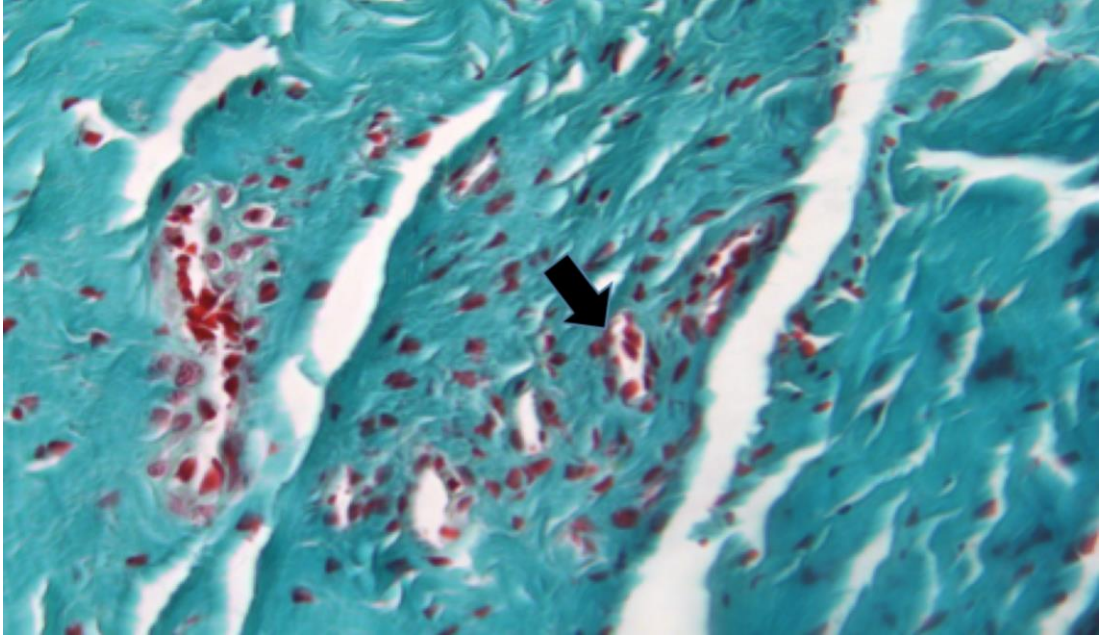
**Şekil 4.5.** 40X büyütmede çalışma grubunda büyük yeni oluşmuş bir damar (Siyah ok) ve damarların etrafında aktif fibroblastlar ve tip üç kollajenler (Kırmızı ok) görülmektedir.



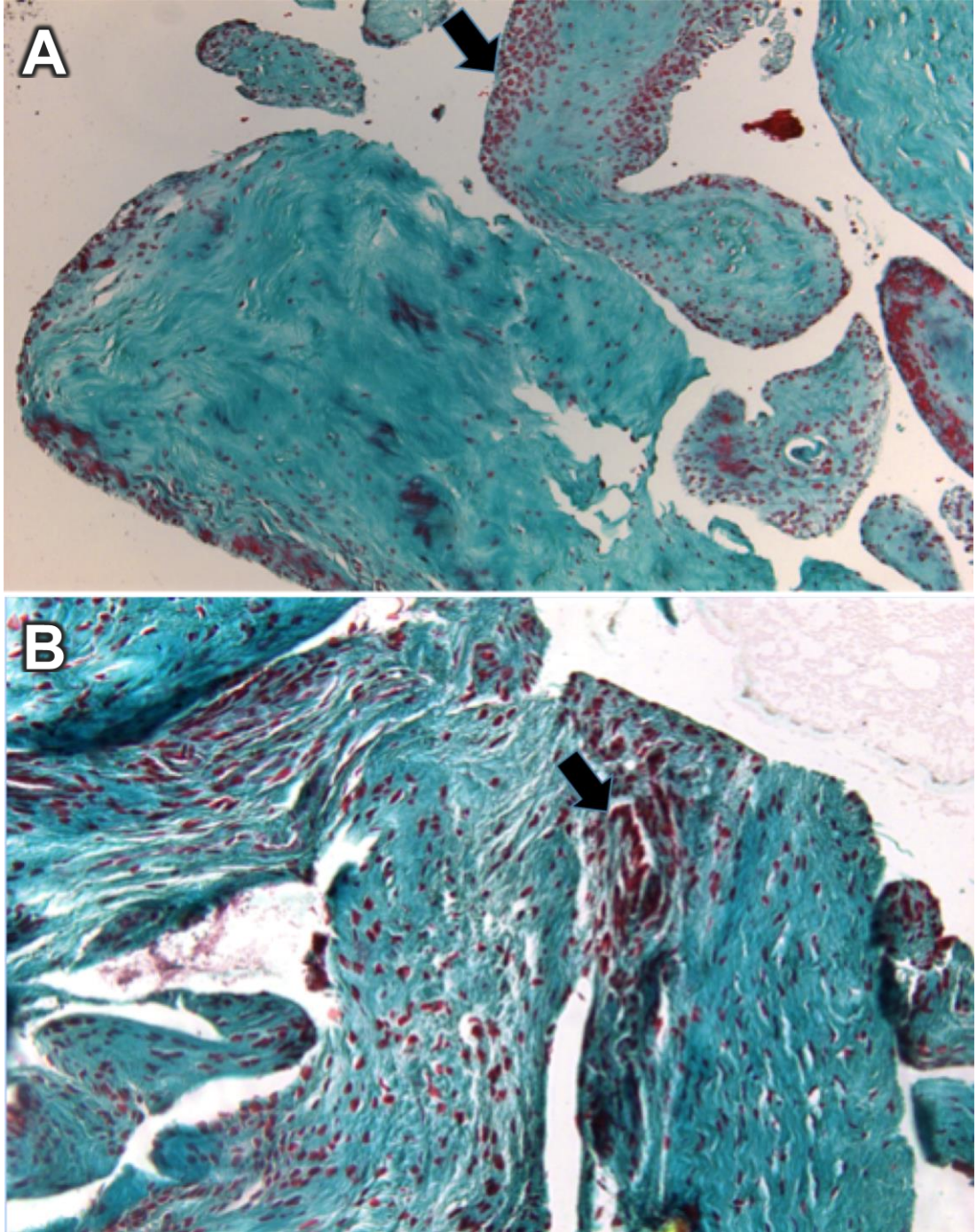


**Şekil 4.6.** Çalışma grubunda damarlanmanın enerjisini sağlamak için bulunan yağ hücreleri 20X büyütmede (A) ve 40X büyütmede (B) okla gösterilmiştir.

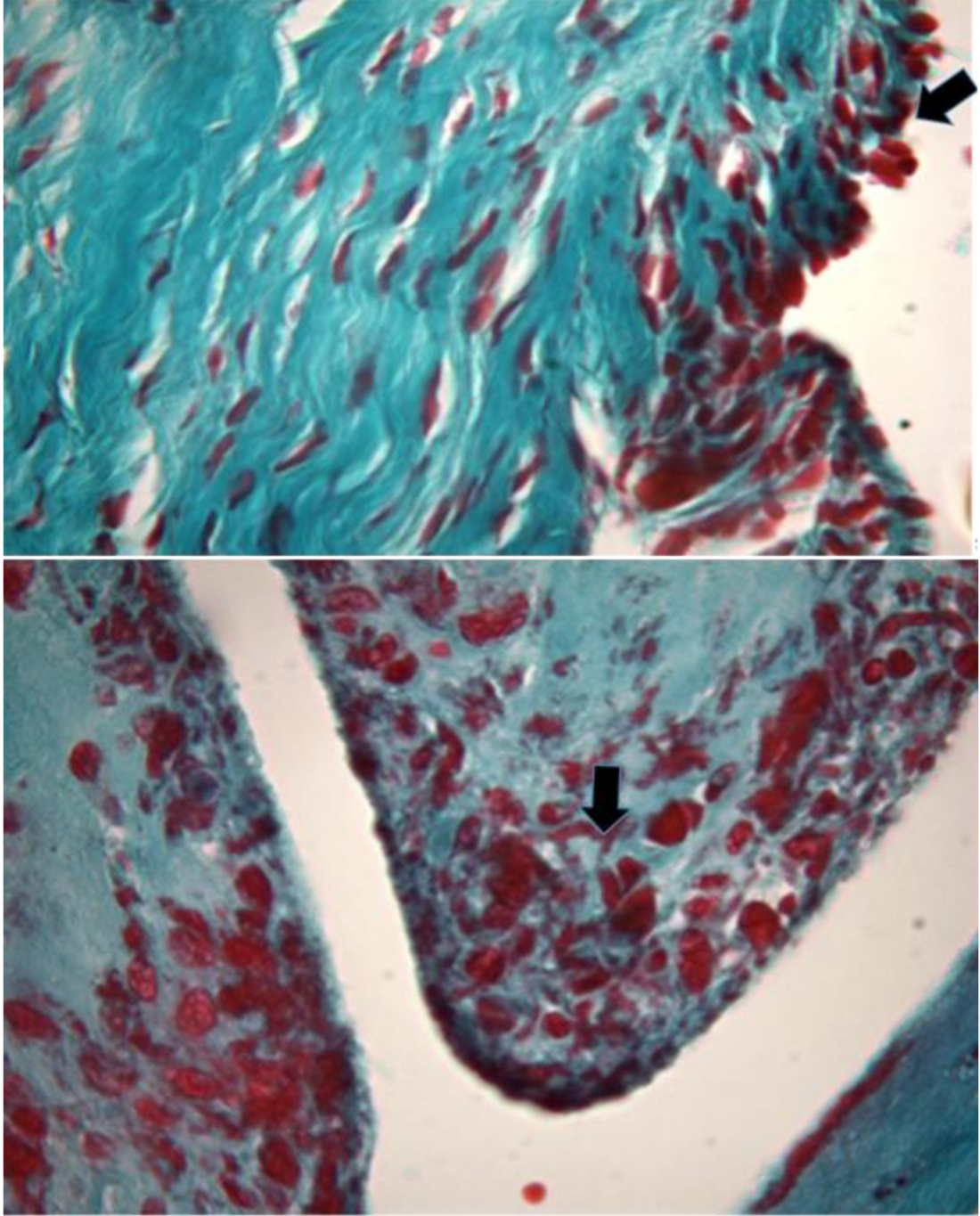
Kontrol grubunda kesitlerde yapılan incelemede, kesi yapılan bağ kenerlarında kesi etkisiyle az miktarda damarlanmaya rastlandı (Şekil 4.7). Kök hücreler daha çok dokunun kesi oluşan alanlarında ve kenarlarda izlendi (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10). Dokunun orta bölümlerinde aktif fibroblast izlenmedi (Şekil 4.10, Şekil 4.11). Yağ hücrelerine kontrol gruplarında rastlanmadı.



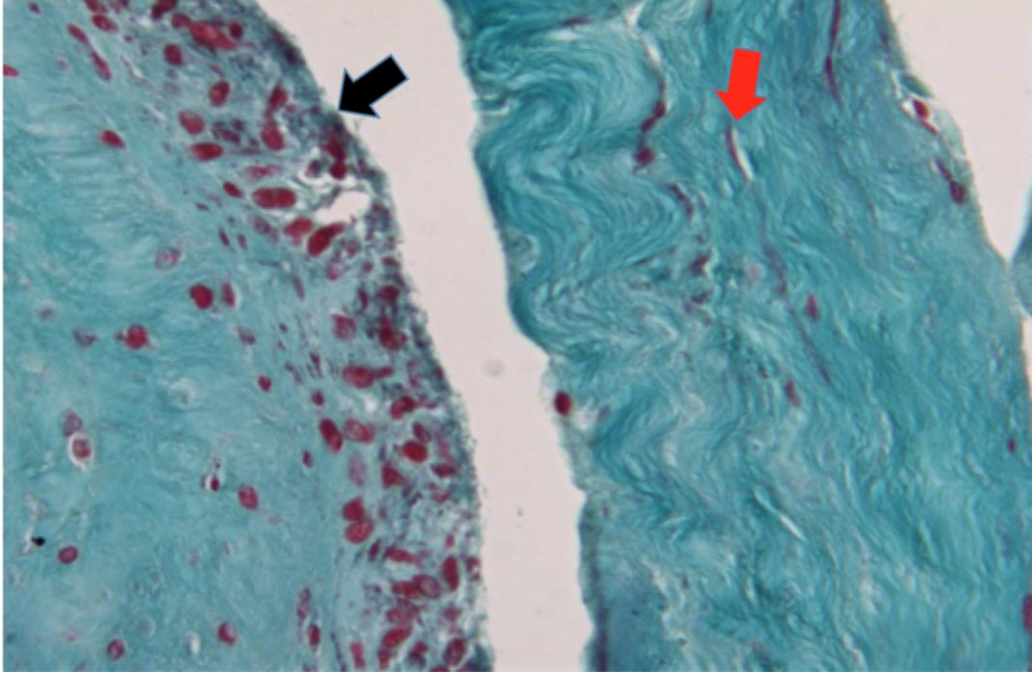
**Şekil 4.7.** Kontrol grubunda 63X büyütmede dokuda az bir miktardaki damarlanma okla gösterilmiştir.



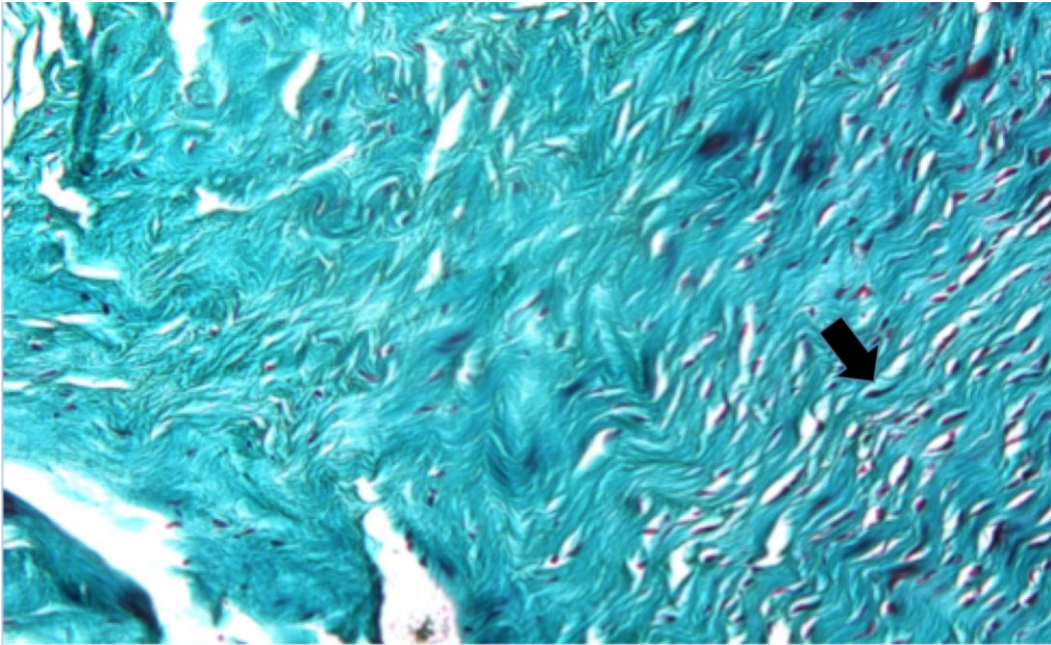
**Şekil 4.8.** Kontrol grubunda gözlenen kök hücreler, 10X büyütmede (A) ve 20X büyütmede (B) okla gösterilmiştir.



**Şekil 4.9.** Kontrol grubunda 63X büyütmede uç taraflardaki kök hücreler okla gösterilmiştir.



**Şekil 4.10.** Kontrol grubunda 40X büyütmede uç taraflarda kök hücreler (Siyah ok) görülmektedir, ama dokunun genelinde inaktif fibroblastlar bulunmaktadır (Kırmızı ok).

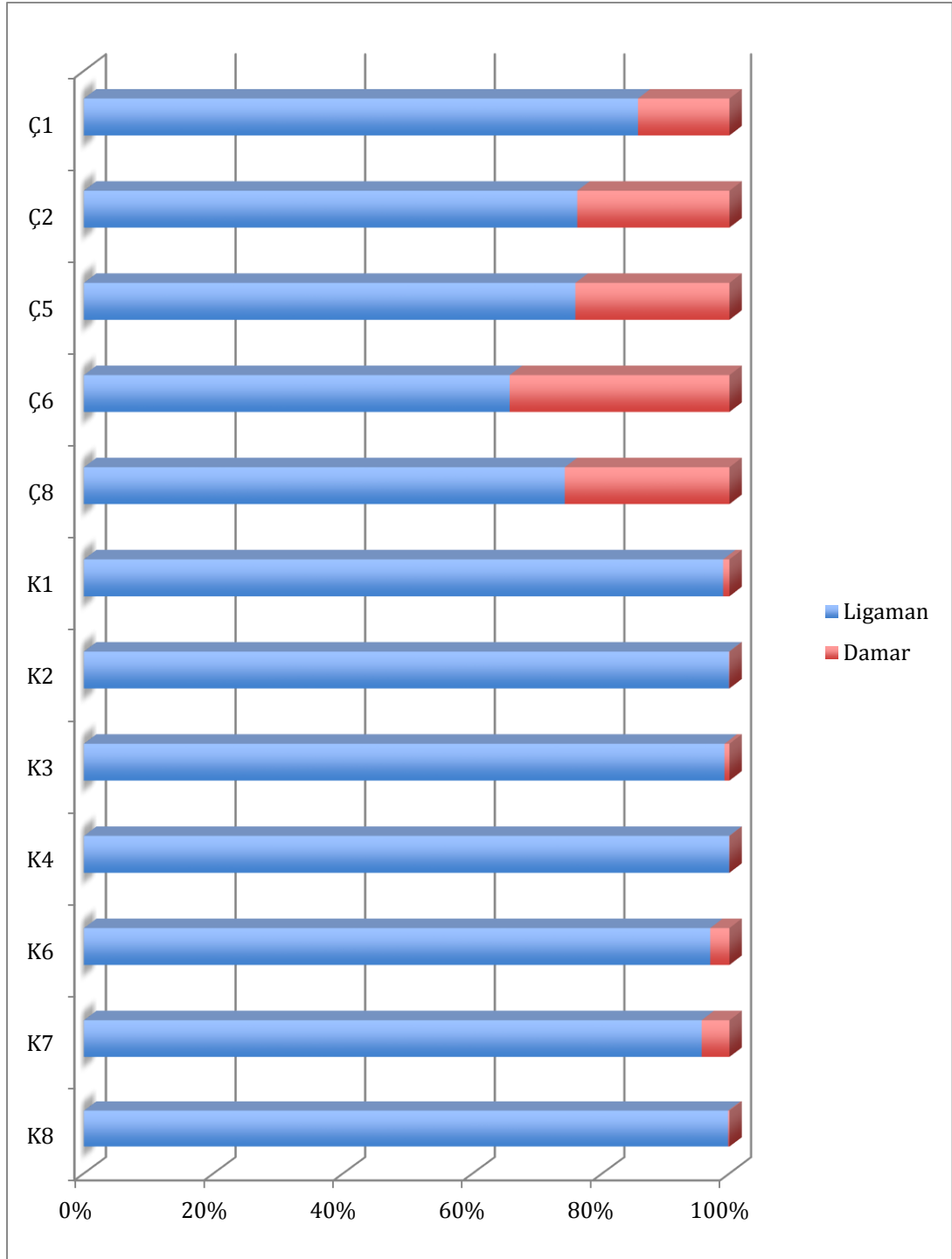


**Şekil 4.11.** Kontrol grubunda 20X büyütmede inaktif fibroblastlar görülmektedir.

ÖÇB tahmini damar ve ligaman hacimleri Tablo 4.1’de görülmektedir. Çalışma grubunda ortalama bağ içi damar hacim oranı (%24,51), kontrol grubunun (%1,36) 18,02 katı olarak bulundu (Şekil 4.12). Çalışma grubunda bağ içi damar oranı ortalaması, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla saptandı ( $p=0,003$ ).

**Tablo 4.1.** Çalışma ve kontrol grubunda ölçülen ÖÇB damar ve ligaman hacimleri.

		Tahmini hacim (mm <sup>3</sup> )		Bağ içi damar hacim oranı (%)
		Damar	Ligaman	
Çalışma grubu	Tavşan 1	0,6835	4,0470	14,44878977
	Tavşan 2	2,0895	6,6665	23,86363636
	Tavşan 5	5,0655	15,9005	24,16054565
	Tavşan 6	0,7005	1,34238	34,28982610
	Tavşan 8	1,9285	5,54891	25,79151210
Kontrol grubu	Tavşan 1	0,0370	3,6695	0,998246324
	Tavşan 2	0,0020	2,7145	0,073624149
	Tavşan 3	0,0275	3,4985	0,779920590
	Tavşan 4	0,0015	3,2405	0,046267736
	Tavşan 6	0,0726	2,3240	3,029291500
	Tavşan 7	0,2979	6,4719	4,401131490
	Tavşan 8	0,0121	5,7444	0,210197170



**Şekil 4.12.** Tavşanların ÖÇB dokularının ligaman ve damar yüzdelerinin dağılımı. Ç: Çalışma grubu, K: Kontrol grubu.

## 5. TARTIŞMA

Tendon ve bağlar; yoğun ve hiposelüler bir yapı oluşturacak ekstraselüler matriks sentezleyen fibroblastları içermektedir. Hasarlı tendonu veya bağı tamamen eski formuna döndürebilecek bir tedavi henüz yoktur (83). Bağların vaskülaritesi azdır ancak normal bağ sağlığı ve fonksiyonu için yeterli kan dolaşımının olması önemlidir. Bağ yaralanmasında vasküler yanıt, iyileşmede belirleyici olarak kabul edilmektedir (86, 87).

Tendon ve bağlar, hipovasküler yapılarından ötürü diğer bağ dokularına kıyasla daha yavaş iyileşmektedirler (83). Farklı bağ yaralanmalarının da iyileşme yanıtları ve sonuçları büyük ölçüde değişmektedir, ÖÇB'nin iyileşme kabiliyeti kısıtlıdır (82). Kemik-patellar tendon-kemik veya hamstring tendonu gibi otoplastik veya allograftlar, diz stabilitesini sağlamak için kullanılmaktadır. Ancak bu rekonstrüksiyon cerrahileri sonrasında donör yeri morbiditesi, ekstansiyon defisiti, greft dejenerasyonu, hamstring kasında zayıflama ve kemik tüneline genişleme gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir. ÖÇB rekonstrüksiyonu için cerrahi prosedürlerin iyileştirilmesi yönündeki çabalara rağmen halen birçok hastada uzun dönemde erken osteoartrit gelişmektedir (82).

Büyüme faktörleri; hücre büyümesini, proliferasyonunu ve protein üretimini başlatan polipeptitlerdir. Sessiz hücrelerde de mitozu başlatabilme yetenekleri vardır (56). EGF'nin korneal epitelyal rejenerasyonu arttırdığı (98), EGF ve TGF- $\alpha$ 'nın gastrik asit sekresyonunu inhibe ettiği ve gastrointestinal hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (99). Cilt yaralarında da EGF'nin kullanıldığı çalışmalar vardır. Brown ve ark., yaralara gümüş sülfadiyazınle beraber biyosentetik EGF uygulayarak EGF'nin yara iyileşmesi üzerine etkisini incelemiştir (59). Sadece gümüş sülfadiyazın uygulanan gruba göre EGF uygulanan grupta, epidermal rejenerasyonda artış ve iyileşme zamanında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır. Yaralanmada hücre yanıtının düzenlenmesinde önemli rolleri nedeniyle; büyüme faktörlerinin, bağ yaralanmalarında iyileştirmeyi artırma amacıyla kullanıldığı çalışmalar vardır (82). Kısıtlı iyileşme kapasitesi olması nedeniyle ÖÇB iyileşme sürecinde etkili olabilecek biyolojik ajanlarla ilgili çalışmalar



yapılmıştır (69-71, 73, 92). Bizim çalışmamızda da, EGF'nin yara iyileşmesini arttırdığı yönündeki literature verilerine dayanarak ÖÇB yırtığı modelinde EGF'in bağ iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. ÖÇB yırtığı modelinde EGF verilmesiyle beraber vaskülarizasyonda artış ve dolayısıyla da literatürle uyumlu olarak doku iyileşmesinde artış olduğu çalışmamızda gösterilmiştir.

Literatüre bakıldığında da bağ iyileşme sürecinde anjiogenezde artış olduğu bildirilmiştir. Bray ve ark., tavşanlarda MKB'lerin mikrovasküler anatomisini, kantitatif görüntü analizi metodu ile incelemiştir (86). Normal MKB'nin hipovasküler olduğunu, iyileşen MKB skar dokusunda ise vaskülarizasyonun normalden iki kat fazla olduğunu saptamışlardır. ÖÇB dokusunun iyileşme potansiyeli diğer bağlara kıyasla daha azdır. Bray ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada tavşanlarda ÖÇB ve MKB'nin vasküler yanıtla iyileşme kapasitelerini incelemiştir (93). ÖÇB'de, MKB'de olduğu kadar belirgin bir anjiogenetik aktivite piki saptanmamış, doku kan akımında da artış görülmemiştir. Büyüme faktörlerinin anjiogenez ve doku iyileşmesi üzerindeki etkisi de yapılan çalışmalarda incelenmiştir. Yoshikawa ve ark.'ın yaptığı çalışmada koyunlarda semitendinöz tendon ile ÖÇB rekonstrüksiyonunda VEGF solüsyonu kullanımının etkisini araştırmışlardır (96). VEGF uygulanan grupta yeni damar oluşumu ve infiltratif fibroblastlar, kontrol grubuna göre daha fazla görülmüştür. Lyras ve ark.'ın yaptığı çalışmada da aşil tendonuna PRP uygulanmasının anjiogenezi arttırdığı ve iyileşme sürecini hızlandırabileceği bildirilmiştir (94). Grotendorst ve ark., EGF ve TGF- $\alpha$ 'nın ratlarda kalp vasküler endotelial hücrelerinde potent kemoatraktan ve anjiogenetik faktör olduğunu göstermişlerdir (95). Schreiber ve ark.; in vitro olarak TGF- $\alpha$  ve EGF'nin endotelial hücreler de dahil olmak üzere birçok hücreye bağlandığı ve DNA sentezini dengeli bir şekilde stimüle ettiğini, in vivo olarak da TGF- $\alpha$ 'nın EGF'ye kıyasla anjiogenezi daha fazla uyardığı bildirilmiştir (97). Bizim çalışmamızda, cerrahi prosedürle tavşanlardan çıkarılan ÖÇB dokuları eşit olmadığından, bağ içindeki yeni damar oluşumunu daha objektif değerlendirebilmek için bağ içi damar hacim oranları hesaplanmıştır. Damar hacim oranları, EGF verilen tavşanlarda %14,44 ile %34,28 arasında saptanırken kontrol grubunda %0,04 ile %4,4

arasında saptanmıştır. EGF verilen grupta damar hacim oranı, kontrol grubunun 18,02 katı olarak saptanmıştır. Çalışma grubunda bağ içi damar oranı ortalaması, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır ( $p=0,003$ ). Daha fazla yeni damar oluşumunun görülmesi nedeniyle; hasarlı ÖÇB'de EGF uygulanmasının, bağ iyileşmesini hızlandırılabileceğini düşünmekteyiz.

Tip III kollajen, normal tendon ve bağlarda ekstraselüler matriksin önemli bir bileşenini oluşturmaz ancak hızlı bağlantılar oluşturabilme ve onarım alanını stabilize edebilme yetenekleri nedeniyle onarım sürecinde büyük avantaj sağladığı düşünülmektedir (100). Wiig ve ark.'ın yaptığı çalışmada; hyaluronik asitin, ÖÇB erken onarım sürecindeki etkisi incelenmiştir (73). Hyaluronik asit ile tedavi edilen bağlarda artmış anjiogenezin ve tip III kollajen üretiminin olduğunu, daha az inflamatuvar yanıtla beraber daha iyi bir onarım sağlandığını bildirmişlerdir. DesRosiers ve ark.'ın yaptığı çalışmada da, köpeklerin ÖÇB'lerinden alınan fibroblastlar kültüre edilmiş ve büyüme faktörlerinin etkisi incelenmiştir (12). EGF ve PDGF-AB'nin hücre proliferasyonunu benzer şekilde arttırdığı bulunmuştur. Kollajen üretimi ve tip I:III kollajen oranını EGF'nin hafif azalttığı, TGF- $\beta$ 1 ve IGF-1'in ise arttırdığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da EGF verilen grupta ÖÇB dokusunda özellikle yeni oluşan damarların çevresinde tip III kollajen oluşumu gözlenmiş ve EGF kullanımının, bağın iyileşme potansiyelini arttırdığı düşünülmüştür.

Literatüre bakıldığında TGF- $\beta$ , PDGF, FGF, EGF gibi büyüme faktörlerinin; ÖÇB hücre proliferasyonu, kollajen üretimini ve hücre göçünü stimüle etmek amacıyla kullanıldığı görülmektedir (10, 85, 101). Murray ve ark.'ın yaptığı çalışmada, kollajen-glukozaminoglikan skafold üzerinde kültüre edilmiş insan ÖÇB hücrelerinde TGF- $\beta$ 1, PDGF, EGF ve FGF-2'nin etkileri incelenmiştir (70). TGF- $\beta$ 1 verilen ve PDGF verilen gruplarda, hücre sayısında ve kollajen üretiminde artış saptanmıştır. FGF-2 ilave edilen grupta, kontrol grubuna göre hücre proliferasyonunun daha fazla olduğu ve skafold küçülme oranının daha az olduğu saptanmıştır. Hücre göçü mesafesi en fazla EGF grubunda saptansa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark

saptanmamıştır (70). Schmidt ve ark., büyüme faktörlerinin tavşan ÖÇB ve MKB fibroblastlarında proliferasyona etkisini incelemiştir (102). EGF, FGF ve PDGF gruplarında, kontrol grubuna göre fibroblast proliferasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. TGF- $\beta$ 1 grubunda sadece MKB fibroblastlarında artış görülürken IGF-1 grubunda hücre bölünmesinde artış saptanmamıştır. McKean ve ark.; EGF maruziyeti sonrasında ÖÇB ve MKB hücrelerinde başlangıçta adezyon güçlerini arttırdıklarını, sonrasında da adezyon gücü azalırken proliferasyon hızında artış olduğunu saptamışlardır (85). Kobayashi ve ark.'ın çalışmasında PDGF ve FGF maruziyeti sonrasında ÖÇB ve MKB hücrelerinde hücre göçünde artış saptanmıştır (101). Krismer ve ark.'ın yaptığı çalışmada ÖÇB hücrelerinde PRP uygulamasının hücre proliferasyonunu anlamlı olarak arttırdığı ancak ekstraselüler matriks üretimini arttırmadığı bulunmuştur (103). Foto-reaktif EGF ile insan ÖÇB hücre kültürü üzerinde yapılan bir çalışmada, verilen EGF miktarı arttıkça hücre proliferasyonunun da arttığı gösterilmiştir (60). Bizim çalışmamızda da ÖÇB yırtığı modelinde EGF uygulanmasıyla, özellikle yeni oluşan damarlar çevresinde yoğun kök hücre artışı saptanmıştır. Kontrol grubuna ise özellikle kesinin olduğu alanlarda, kesinin etkisiyle de görülebilecek az miktarda kök hücreye rastlanmıştır. Hücre göçü ve proliferasyonunun iyileşme sürecinin bir parçası olduğu düşünülecek olursa çalışmamızda EGF kullanımının ÖÇB iyileşme sürecinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Fibroblastlar, vücutta birçok dokuda, genellikle nispeten pasif durumda bulunmaktadır. Tip 1 kollajen veya proteoglikan gibi ekstraselüler matriks moleküllerinin üretiminden ve devirdaiminden sorumlu hücrelerdir. Bununla beraber anjiogenezde, doku “remodeling” sürecinde, hücre diferansiyasyonunda, sonuç olarak da doku iyileşmesinde rol oynamaktadırlar. Fibroblastlar iyileşme dokusunda aktive olmakta ve nükleusları daha yuvarlak hale gelmektedir (104-106). Çalışmamızda ÖÇB yırtık modelinde EGF uygulanmasıyla beraber, dokudaki fibroblastların aktif hale geldiği gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise aktif fibroblasta rastlanmamıştır. Aktif fibroblastların yara iyileşmesindeki rolü göz önüne

alındığında EGF verilmesiyle beraber kontrol grubuna kıyasla bağ iyileşmesinde artış sağlanabileceği düşünülmektedir.

Büyüme faktörlerinin etkisinin doz bağımlı olduğu bilinmektedir (107). Sakai ve ark.'ın yaptığı çalışmada, tavşanlarda in situ dondurulmuş ÖÇB'ye, TGF- $\beta$ 1 ve EGF'nin beraber verilmesinin etkisi araştırılmıştır (108). Düşük doz büyüme faktörlerinin (4 ng rekombinant insan TGF- $\beta$ 1 ve 100 ng rekombinant insan EGF) uygulandığı gruplarda hücre sayısının daha fazla olduğu gözlenmiş, intraartiküler dokulardan ÖÇB'ye hücre göçünün büyüme faktörleriyle uyarıldığı düşünülmüştür. Yüksek doz büyüme faktörü (2  $\mu$ g rekombinant insan TGF- $\beta$ 1 ve 50  $\mu$ g rekombinant insan EGF) uygulamasının ise dondurulmuş ÖÇB'de "remodeling"i etkilemediği saptanmıştır (108). Hildebrant ve ark.'ın yaptığı çalışmada yüksek doz TGF- $\beta$ 1 ve EGF'nin MKB iyileşmesini anlamlı olarak etkilemediği bulunmuştur (109). Deie ve ark.'ın çalışmasında da tavşan MKB fibroblast kültürlerinde TGF- $\beta$ 1 ve EGF'nin etkisini incelenmiştir (68). Kollajen ve protein sentezinin; TGF- $\beta$ 1 verilen grupta verilen doza göre anlamlı bir şekilde etkilendiği, EGF verilen grupta ise etkilenmediği bildirilmiştir. Biz çalışmamızda tavşanların dizlerine 15  $\mu$ g insan rekombinant EGF uygulanmıştır. Verdiğimiz doz, literatürde geçen düşük ile yüksek doz EGF miktarının arasında bir değerdedir. Farklı EGF dozlarıyla karşılaştırma yapılmasa da sekiz hafta sonunda EGF verilen tavşanların ÖÇB dokularında anjiogenezde artış saptanmıştır.

EGF'nin pozitif etkisini açıklayabilecek diğer elde edilen bulgu, kontrol grubunda olmayan ancak çalışma grubunda gözlenen adipositlerdir. EGF'nin etkisiyle sentez ve proliferasyon, sonuç olarak da enerji ihtiyacı artmaktadır. Gerekli olan enerji ihtiyacını karşılayabilmek için de adiposit artışı görülmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda EGF verilmesiyle adipositlerin görülmesi; daha hızlı bir şekilde sentez ve proliferasyonun olduğunun, iyileşmenin kontrol grubuna göre daha hızlı ilerlediğinin bir göstergesidir. Bu elde edilen bulgular ışığında; ÖÇB yırtığı sonrasında EGF uygulanmasının, bağ iyileşmesi üzerinde etkin ve efektif bir rol oynadığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda kısıtlılıklar vardır. Bir kısıtlılık, gruplarda ÖÇB dokusunda mekanik özelliklerin incelenmemesidir. EGF'nin ÖÇB

iyileşmesinde etkili olduğunu göstermek için biyomekanik değerlendirme de yapılması gerekmektedir. Başka bir kısıtlılık ise çalışmanın sadece sekizinci hafta sonuçlarının değerlendirilmesidir. Uzun dönem ve ara dönem sonuçlarımız mevcut değildir. Sekiz haftadan daha kısa ve daha uzun dönemde gruplar arasında histolojik açıdan fark olup olmadığının değerlendirilebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ

Bizim hipotezimiz olan; ÖÇB yırtığında EGF uygulamasının anjiogenez ve iyileşmeyi arttırdığı histolojik ve istatistiksel olarak gösterilmiştir.

ÖÇB, iyileşmesi kısıtlı olan bir dokudur. Bu çalışma bize, ÖÇB yırtığı tedavisinde EGF uygulanmasının iyileşmeyi arttırabileceğini göstermiştir.

EGF'nin etkisinin daha iyi değerlendirilebilmesi ve ÖÇB yırtığı tedavisinde alternatif bir yöntem olarak rolünün belirlenebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

İlerideki çalışmalarda, biyomekanik incelemenin de çalışmaya eklenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Barrack, R.L., ve ark., *The outcome of nonoperatively treated complete tears of the anterior cruciate ligament in active young adults*. Clinical orthopaedics and related research, 1990. 259: p. 192-199.
2. Tandogan, R.N., ve ark., *Analysis of meniscal and chondral lesions accompanying anterior cruciate ligament tears: relationship with age, time from injury, and level of sport*. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2004. 12(4): p. 262-270.
3. Fithian, D.C., ve ark., *Fate of the anterior cruciate ligament-injured knee*. Orthopedic Clinics of North America, 2002. 33(4): p. 621-636.
4. Fithian, D.C., ve ark., *Prospective trial of a treatment algorithm for the management of the anterior cruciate ligament-injured knee*. The American journal of sports medicine, 2005. 33(3): p. 335-346.
5. Barrett, D., *Proprioception and function after anterior cruciate reconstruction*. Bone & Joint Journal, 1991. 73(5): p. 833-837.
6. Giffin, J.R. ve C.D. Harner, *Failed anterior cruciate ligament surgery: overview of the problem*. The American journal of knee surgery, 2000. 14(3): p. 185-192.
7. Johansson, H., ve ark., *A sensory role for the cruciate ligaments*. Clinical orthopaedics and related research, 1991. 268: p. 161-178.
8. Sjölander, P., ve ark., *Sensory nerve endings in the cat cruciate ligaments: a morphological investigation*. Neuroscience letters, 1989. 102(1): p. 33-38.
9. Seitz, H., ve ark., *Histological evaluation of the healing potential of the anterior cruciate ligament by means of augmented and non-augmented repair: an in vivo animal study*. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2008. 16(12): p. 1087-1093.
10. Steiner, M.E., ve ark., *Strategies to improve anterior cruciate ligament healing and graft placement*. The American journal of sports medicine, 2008. 36(1): p. 176-189.

11. Kobayashi, D., ve ark., *Effect of basic fibroblast growth factor on the healing of defects in the canine anterior cruciate ligament*. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 1997. 5(3): p. 189-194.
12. DesRosiers, E.A., ve ark., *Proliferative and matrix synthesis response of canine anterior cruciate ligament fibroblasts submitted to combined growth factors*. Journal of orthopaedic research, 1996. 14(2): p. 200-208.
13. Petersen, W. ve T. Zantop, *Anatomy of the anterior cruciate ligament with regard to its two bundles*. Clinical orthopaedics and related research, 2007. 454: p. 35-47.
14. Murray, M.M., *History of ACL treatment and current gold standard of care*, in *The ACL Handbook*. 2013, Springer. p. 19-28.
15. Strehl, A. ve S. Egli, *The value of conservative treatment in ruptures of the anterior cruciate ligament (ACL)*. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2007. 62(5): p. 1159-1162.
16. Cowan, D., *Reconstruction of the Anterior Cruciate Ligament by the Method of Kenneth Jones (1963)*. 1965, SAGE Publications.
17. Dandy, D., ve ark., *Arthroscopy and the management of the ruptured anterior cruciate ligament*. Clinical orthopaedics and related research, 1982. 167: p. 43-49.
18. Pässler, H.H. ve Y. Yang, *The past and the future of arthroscopy*, in *Sports injuries*. 2012, Springer. p. 5-13.
19. Bicer, E.K., ve ark., *Current knowledge in the anatomy of the human anterior cruciate ligament*. Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy, 2010. 18(8): p. 1075-1084.
20. Clarke, H.D., ve ark., *Anatomy*, in *Insall & Scott Surgery of the Knee*, W.N. Scott, Editor. 2018. p. 2-49.
21. Hürel, C. ve G. Çelebi, *Ön çapraz bağıın anatomik ve biyomekanik özellikleri ve diz kinematiğindeki rolü* Acta Orthop Traumatol Turc, 1999. 33: p. 369-373.



22. Girgis, F.G., ve ark., *The Cruciate Ligaments of the Knee Joint: Anatomical. Functional and Experimental Analysis*. Clinical orthopaedics and related research, 1975. 106: p. 216-231.
23. Miller, R.H. ve F.M. Azar, *Knee Injuries*, in *Campbell's Operative Orthopaedics, Thirteenth Edition*, F.M. Azar, ve ark., Editors. 2017. p. 2121-2297.
24. Doral, M.N., *Sporcuların Ön Çapraz Bağ Sorunlarında Cerrahi Tedavi Prensipleri*. Hacettepe Ortopedi Dergisi, 1991. 1(1): p. 48-52.
25. Barrack, R.L., ve ark., *Proprioception in the anterior cruciate deficient knee*. The American Journal of Sports Medicine, 1989. 17(1): p. 1-6.
26. Paulsen, F., *Lower extremity*, in *Sobotta Atlas of Human Anatomy, Vol. 1, Fifteenth Edition*, F. Paulsen ve J. Waschke, Editors. p. 243-374.
27. Dargel, J., ve ark., *Biomechanics of the anterior cruciate ligament and implications for surgical reconstruction*. Strategies in Trauma and Limb Reconstruction, 2007. 2(1): p. 1-12.
28. Niska, J.A., ve ark., *Anterior Cruciate Ligament Injuries (Including Revision)*, in *DeLee & Drez's Orthopaedic Sports Medicine: Principles and Practice, Fourth Edition*, M.D. Miller ve S.R. Thompson, Editors. p. 1149-1163.
29. Guillodo, Y., ve ark., *Diagnosis of anterior cruciate ligament rupture in an emergency department*. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2008. 65(5): p. 1078-1082.
30. Spindler, K.P. ve R.W. Wright, *Anterior cruciate ligament tear*. New England Journal of Medicine, 2008. 359(20): p. 2135-2142.
31. Magee, D.J., *Knee*, in *Orthopedic Physical Assessment, Sixth Edition*, D.J. Magee, Editor. p. 765-887.
32. Jakob, R., ve ark., *Grading the pivot shift. Objective tests with implications for treatment*. Bone & Joint Journal, 1987. 69(2): p. 294-299.
33. Nyland, J., ve ark., *Medial Collateral Ligament and Anterior Cruciate Ligament Synergy: Functional Interdependence*, in *Sports Injuries: Prevention, Diagnosis, Treatment and Rehabilitation*, M.N. Doral ve J.

- Karlsson, Editors. 2015, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1131-1143.
34. Hetsroni, I., ve ark., *Medial Side Instability and Reconstruction*, in *Sports Injuries: Prevention, Diagnosis, Treatment and Rehabilitation*, M.N. Doral ve J. Karlsson, Editors. 2015, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1145-1153.
  35. Gillquist, J. ve K. Messner, *Anterior cruciate ligament reconstruction and the long term incidence of gonarthrosis*. Sports Medicine, 1999. 27(3): p. 143-156.
  36. DORAL, M.N., ve ark., *Minimal Invasive Acute Medial Collateral Ligament Stabilization with Partial Anterior Cruciate Ligament Deficiency*. 2013.
  37. Miyasaka, K., *The incidence of knee ligament injuries in the general population*. Am J Knee Sug, 1991. 4: p. 3-8.
  38. Fanelli, G.C. ve C.J. Edson, *Arthroscopically assisted combined anterior and posterior cruciate ligament reconstruction in the multiple ligament injured knee: 2-to 10-year follow-up*. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 2002. 18(7): p. 703-714.
  39. Järvelä, T., ve ark., *Anterior cruciate ligament reconstruction in patients with or without accompanying injuries: a re-examination of subjects 5 to 9 years after reconstruction*. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 2001. 17(8): p. 818-825.
  40. Konrads, C., ve ark., *Long-term outcome of anterior cruciate ligament tear without reconstruction: a longitudinal prospective study*. International orthopaedics, 2016. 40(11): p. 2325-2330.
  41. Monk, A.P., ve ark., *Surgical versus conservative interventions for treating anterior cruciate ligament injuries*. The Cochrane Library, 2016.
  42. Nebelung, W. ve H. Wuschech, *Thirty-five years of follow-up of anterior cruciate ligament—deficient knees in high-level athletes*. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 2005. 21(6): p. 696-702.

43. Frank, C.B. ve D.W. Jackson, *Current concepts review-the science of reconstruction of the anterior cruciate ligament*. J Bone Joint Surg Am, 1997. 79(10): p. 1556-76.
44. Kostem, L. ve H. Aydinok, *Ön çapraz bağ akut yaralanmalarında primer tamir (Destekli veya desteksiz)*. Acta Orthop Traumatol Turc, 2004. 33(5): p. 396-400.
45. Phillips, B.B. ve M.J. Mihalko, *Arthroscopy of the Lower Extremity*, in *Campbell's Operative Orthopaedics Thirteenth Edition*, F.M. Azar, ve ark., Editors. 2017. p. 2486-2566.
46. Odonno, R.M., ve ark., *Anterior Cruciate Ligament Injuries and Reconstruction: Indications, Principles, and Outcomes*, in *Insall & Scott Surgery of the Knee, Sixth Edition*, W.N. SCOTT, Editor. 2018. p. 608-622.
47. Jabara, M.R. ve W.G. Clancy Jr, *Anatomic arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction using bone-patellar tendon-bone autograft*. Techniques in Orthopaedics, 2005. 20(4): p. 405-413.
48. West, R.V. ve C.D. Harner, *Graft selection in anterior cruciate ligament reconstruction*. Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2005. 13(3): p. 197-207.
49. Bodendorfer, B.M., ve ark., *Primary Repair of the Anterior Cruciate Ligament: A Review of the Literature*. J Orth Rhe Sp Med, 2016. 1(3): p. 111.
50. Dallo, I., ve ark., *Biologic Approaches for the Treatment of Partial Tears of the Anterior Cruciate Ligament: A Current Concepts Review*. Orthopaedic Journal of Sports Medicine, 2017. 5(1): p. 2325967116681724.
51. Eppley, B.L., ve ark., *Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing*. Plastic and reconstructive surgery, 2004. 114(6): p. 1502-1508.
52. Kiapour, A. ve M. Murray, *Basic science of anterior cruciate ligament injury and repair*. Bone and Joint Research, 2014. 3(2): p. 20-31.

53. Seijas, R., ve ark., *Partial anterior cruciate ligament tears treated with intraligamentary plasma rich in growth factors*. World journal of orthopedics, 2014. 5(3): p. 373.
54. Podesta, L., ve ark., *Treatment of partial ulnar collateral ligament tears in the elbow with platelet-rich plasma*. The American journal of sports medicine, 2013. 41(7): p. 1689-1694.
55. Fisher, D.A. ve J. Lakshmanan, *Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals*. Endocrine Reviews, 1990. 11(3): p. 418-442.
56. Steed, D.L., *Modifying the wound healing response with exogenous growth factors*. Clinics in plastic surgery, 1998. 25(3): p. 397-405.
57. Currie, L.J., ve ark., *The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements*. Plast Reconstr Surg, 2001. 108: p. 1713-26.
58. Marui, T., ve ark., *Effect of growth factors on matrix synthesis by ligament fibroblasts*. Journal of Orthopaedic Research, 1997. 15(1): p. 18-23.
59. Brown, G.L., ve ark., *Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor*. New England Journal of Medicine, 1989. 321(2): p. 76-79.
60. Woo, Y.K., ve ark., *Proliferation of anterior cruciate ligament cells in vitro by photo-immobilized epidermal growth factor*. Journal of orthopaedic research, 2007. 25(1): p. 73-80.
61. Branton, M.H. ve J.B. Kopp, *TGF- $\beta$  and fibrosis*. Microbes and infection, 1999. 1(15): p. 1349-1365.
62. Duffy, A.M., ve ark., *Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in non-endothelial cells: autocrine signalling by VEGF*. VEGF and Cancer, 2004: p. 133-144.
63. Laron, Z., *Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone*. Molecular Pathology, 2001. 54(5): p. 311-316.
64. Xie, J., ve ark., *TGF-beta1 induces the different expressions of lysyl oxidases and matrix metalloproteinases in anterior cruciate ligament*

- and medial collateral ligament fibroblasts after mechanical injury.* Journal of biomechanics, 2013. 46(5): p. 890-898.
65. Madry, H., ve ark., *Direct FGF-2 gene transfer via recombinant adeno-associated virus vectors stimulates cell proliferation, collagen production, and the repair of experimental lesions in the human ACL.* The American journal of sports medicine, 2013. 41(1): p. 194-202.
  66. Linkhart, T.A., ve ark., *Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF $\beta$  and BMP.* Bone, 1996. 19(1): p. S1-S12.
  67. Petersen, W., ve ark., *Hypoxia and PDGF have a synergistic effect that increases the expression of the angiogenetic peptide vascular endothelial growth factor in Achilles tendon fibroblasts.* Archives of orthopaedic and trauma surgery, 2003. 123(9): p. 485-488.
  68. Deie, M., ve ark., *The effects of age on rabbit MCL fibroblast matrix synthesis in response to TGF- $\beta$  1 or EGF.* Mechanisms of ageing and development, 1997. 97(2): p. 121-130.
  69. Rizzello, G., ve ark., *Growth factors and stem cells for the management of anterior cruciate ligament tears.* The open orthopaedics journal, 2012. 6(1).
  70. Murray, M.M., ve ark., *The effect of selected growth factors on human anterior cruciate ligament cell interactions with a three-dimensional collagen-GAG scaffold.* Journal of orthopaedic research, 2003. 21(2): p. 238-244.
  71. Kondo, E., ve ark., *Effects of administration of exogenous growth factors on biomechanical properties of the elongation-type anterior cruciate ligament injury with partial laceration.* The American journal of sports medicine, 2005. 33(2): p. 188-196.
  72. Yasuda, K., ve ark., *The Effect of Growth Factors on Biomechanical Properties of the Bone-Patellar Tendon-Bone Graft After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction A Canine Model Study.* The American journal of sports medicine, 2004. 32(4): p. 870-880.
  73. Wiig, M.E., ve ark., *The early effect of high molecular weight hyaluronan (hyaluronic acid) on anterior cruciate ligament healing: an experimental*

- study in rabbits*. Journal of Orthopaedic Research, 1990. 8(3): p. 425-434.
74. Berry, S.M., ve ark., *Hyaluronan: a potential carrier for growth factors for the healing of ligamentous tissues*. Wound Repair and Regeneration, 1997. 5(1): p. 33-38.
  75. Doral, M., ve ark., *Treatment of osteochondral lesions of the talus with microfracture technique and postoperative hyaluronan injection*. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2012. 20(7): p. 1398-1403.
  76. Rhodes, N.P., ve ark., *In vivo characterization of Hyalonect, a novel biodegradable surgical mesh*. Journal of Surgical Research, 2011. 168(1): p. e31-e38.
  77. Vindigni, V., ve ark., *Preliminary Report of In Vitro Reconstruction of a Vascularized Tendonlike Structure: A Novel Application for Adipose-Derived Stem Cells*. Annals of Plastic Surgery, 2013. 71(6): p. 664-670.
  78. Tekin, A.C., ve ark., *Hyalonect in the treatment of pseudarthrosis*. Acta orthopaedica et traumatologica turcica, 2012. 47(6): p. 379-386.
  79. Gallina, C., ve ark., *Development of morphology and function of neonatal mouse ventricular myocytes cultured on a hyaluronan-based polymer scaffold*. Journal of cellular biochemistry, 2012. 113(3): p. 800-807.
  80. Kanaya, A., ve ark., *Intra-articular injection of mesenchymal stromal cells in partially torn anterior cruciate ligaments in a rat model*. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 2007. 23(6): p. 610-617.
  81. Oe, K., ve ark., *New strategies for anterior cruciate ligament partial rupture using bone marrow transplantation in rats*. Stem cells and development, 2010. 20(4): p. 671-679.
  82. Hsu, S.-L., ve ark., *Functional tissue engineering of ligament healing*. BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation, 2010. 2(1): p. 12.
  83. Tozer, S. ve D. Duprez, *Tendon and ligament: development, repair and disease*. Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews, 2005. 75(3): p. 226-236.

84. Manyam Ravikanth, P.S., ve ark., *Heterogeneity of fibroblasts*. Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP, 2011. 15(2): p. 247.
85. McKean, J.M., ve ark., *Epidermal growth factor differentially affects integrin-mediated adhesion and proliferation of ACL and MCL fibroblasts*. Biorheology, 2004. 41(2): p. 139-152.
86. Bray, R., ve ark., *Normal and healing ligament vascularity: a quantitative histological assessment in the adult rabbit medial collateral ligament*. Journal of anatomy, 1996. 188(Pt 1): p. 87.
87. Fenwick, S.A., ve ark., *The vasculature and its role in the damaged and healing tendon*. Arthritis Research & Therapy, 2002. 4(4): p. 252.
88. Tei, K., ve ark., *Administrations of peripheral blood CD34-positive cells contribute to medial collateral ligament healing via vasculogenesis*. Stem cells, 2008. 26(3): p. 819-830.
89. Ohno, K., ve ark., *Healing of the medial collateral ligament after a combined medial collateral and anterior cruciate ligament injury and reconstruction of the anterior cruciate ligament: comparison of repair and nonrepair of medial collateral ligament tears in rabbits*. Journal of orthopaedic research, 1995. 13(3): p. 442-449.
90. Wang, R., ve ark., *Up-Regulation of TGF- $\beta$  Promotes Tendon-to-Bone Healing after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction using Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells through the TGF- $\beta$ /MAPK Signaling Pathway in a New Zealand White Rabbit Model*. Cellular Physiology and Biochemistry, 2017. 41(1): p. 213-226.
91. Grant, S., ve ark., *In vivo bone tunnel evaluation of nanoparticle-grafts using an ACL reconstruction rabbit model*. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2017.
92. Desrosiers, E., ve ark. *Culture of fibroblasts of canine anterior cruciate ligaments in a defined medium, effect of epidermal growth factors and platelet derived growth factors*. in *Annales de chirurgie*. 1992.
93. Bray, R.C., ve ark., *Correlation of healing capacity with vascular response in the anterior cruciate and medial collateral ligaments of the rabbit*. Journal of orthopaedic research, 2003. 21(6): p. 1118-1123.

94. Lyras, D.N., ve ark., *The influence of platelet-rich plasma on angiogenesis during the early phase of tendon healing*. Foot & Ankle International, 2009. 30(11): p. 1101-1106.
95. Grotendorst, G.R., ve ark., *EGF and TGF- alpha are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF- like peptides are present at sites of tissue regeneration*. Journal of cellular physiology, 1989. 139(3): p. 617-623.
96. Yoshikawa, T., ve ark., *Effects of local administration of vascular endothelial growth factor on mechanical characteristics of the semitendinosus tendon graft after anterior cruciate ligament reconstruction in sheep*. The American journal of sports medicine, 2006. 34(12): p. 1918-1925.
97. Schreiber, A., ve ark., *Transforming growth factor-alpha: a more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor*. Science, 1986. 232: p. 1250-1254.
98. Brightwell, J., ve ark., *Biosynthetic human EGF accelerates healing of Neodecadron-treated primate corneas*. Investigative ophthalmology & visual science, 1985. 26(1): p. 105-110.
99. Schultz, G., ve ark., *EGF and TGF-  $\alpha$  in wound healing and repair*. Journal of cellular biochemistry, 1991. 45(4): p. 346-352.
100. Liu, S.H., ve ark., *Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review*. Clin Orthop Relat Res, 1995. 318.
101. Kobayashi, K., ve ark., *Novel method for the quantitative assessment of cell migration: a study on the motility of rabbit anterior cruciate (ACL) and medial collateral ligament (MCL) cells*. Tissue Eng, 2000. 6.
102. Schmidt, C., ve ark., *Effect of growth factors on the proliferation of fibroblasts from the medial collateral and anterior cruciate ligaments*. Journal of orthopaedic research, 1995. 13(2): p. 184-190.
103. Krismer, A.M., ve ark., *The biologic response of human anterior cruciate ligamentocytes on collagen-patches to platelet-rich plasma formulations with and without leucocytes*. Journal of Orthopaedic Research: p. n/a-n/a.



104. Darby, I.A. ve T.D. Hewitson, *Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis*. International review of cytology, 2007. 257: p. 143-179.
105. Mutsaers, S.E., ve ark., *Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis*. The international journal of biochemistry & cell biology, 1997. 29(1): p. 5-17.
106. Upham, J.W., ve ark., *Lung Cell Biology*, in *Pediatric Respiratory Medicine*, L.M. Taussig ve L.I. Landau, Editors. 2008. p. 34-43.
107. Batten, M., ve ark., *Influence of dosage and timing of application of platelet-derived growth factor on early healing of the rat medial collateral ligament*. Journal of Orthopaedic Research, 1996. 14(5): p. 736-741.
108. Sakai, T., ve ark., *Effects of combined administration of transforming growth factor- $\beta$ 1 and epidermal growth factor on properties of the in situ frozen anterior cruciate ligament in rabbits*. Journal of orthopaedic research, 2002. 20(6): p. 1345-1351.
109. Hildebrand, K.A., ve ark., *The effects of platelet-derived growth factor-BB on healing of the rabbit medial collateral ligament. An in vivo study*. Am J Sports Med, 1998. 26.