

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Bojan Dojčinović

**Uloga polimorfizma Sp1 veznog mjesta
COL1A1 gena u predispoziciji za
ozljedu ligamenata i tetiva**

DISERTACIJA



Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

1. Uvod
 - 1.1. Epidemiologija ozljeda ligamenata i tetiva
 - 1.2. Faktori rizika za rupturu prednje ukrižene sveze
 - 1.2.1. Vanjski faktori rizika za ozljedu prednje ukrižene sveze
 - 1.2.2. Unutarnji faktori rizika za ozljedu prednje ukrižene sveze
 - 1.2.2.1. Anatomske faktori
 - 1.2.2.2. Genetski faktori
 - 1.2.2.3. Spol kao faktor rizika
 - 1.2.2.4. Neuromuskularni faktori rizika
 - 1.2.2.5. Mišićna krutost i otpornost na umaranje
 - 1.2.2.6. Biomehanički faktori rizika
 - 1.2.3. Najčešći mehanizmi ozljede
 - 1.3. Posljedice rupture prednje ukrižene sveze (nestabilno koljeno)
 - 1.4. Metode rekonstrukcije prednje ukrižene sveze kroz povijest
 - 1.5. Problem ponovljene ozljede nakon operativnog zahvata i njezini uzroci
 - 1.6. Sinteza i karakteristike kolagena tipa I
 - 1.6.1. Utjecaj polimorfizma gena na sintezu kolagena tipa I
 - 1.7. Anatomija i biomehaničke karakteristike prednje ukrižene sveze
 - 1.8. Usporedba sastava tetiva semitendinozusa i gracilisa s prednjom ukriženom svezom
 - 1.9. Dijagnosticiranje rupture prednje ukrižene sveze
 - 1.10. Suvremeni trendovi u rekonstrukciji prednje ukrižene sveze

1.11. Proces ligamentizacije grafta

1.12. Uzroci ruptуре grafta nakon operacije

1.13. Polimorfizam Sp1 veznog mjesta COL1A1 i ozljeda prednje križne sveze -
dosadašnje spoznaje

1.13.1. Utjecaj polimorfizma gena na mehanička svojstva kolagena tipa I

1.13.2. Što je točno polimorfizam gena

2. HIPOTEZA

3. CILJEVI RADA

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Odabir pacijenata

4.2. Prikupljanje uzorka

4.3. DNA analiza

4.4. Statistička analiza

5. REZULTATI

5.1. Temeljne osobine ispitanika u istraživanju i pripadnost skupini

5.2. Pojavnost genotipova na Sp1 veznom mjestu i pripadnost skupini

5.3. Vrsta sporta i pripadnost skupini

5.4. Multivarijantna regresijska analiza

6. RASPRAVA

7. ZAKLJUČAK

8. SAŽETAK

9. SUMMARY

10. LITERATURA

11. ŽIVOTOPIS

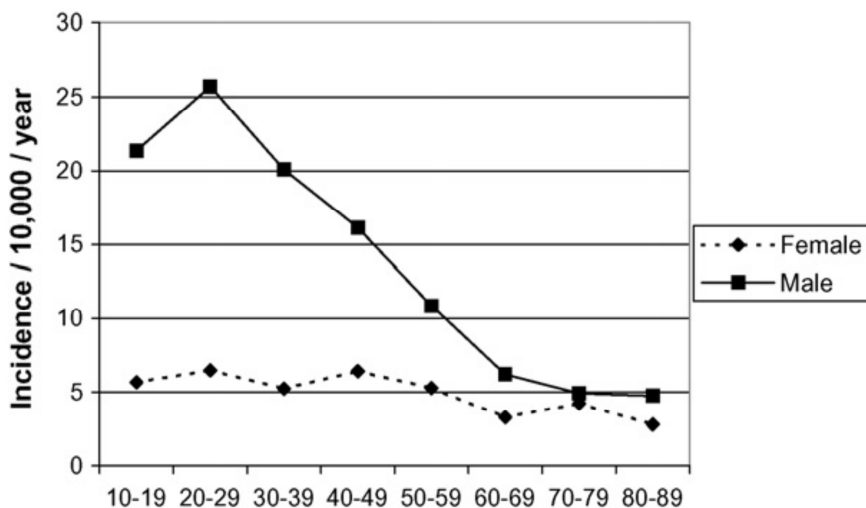
1. Uvod

1.1. Epidemiologija ozljeda ligamenata i tetiva

Mišićnotetivni sustav najizloženiji je ozljedama u sportskim i aktivnostima svakodnevnog života. S obzirom na intenzitet tegoba koje su u akutnoj fazi po prirodi takve da najčešće ne izazivaju potpuni gubitak funkcije, kao što je slučaj kod loma kosti, ove se ozljede neopravdano zanemaruju što naposljetku dovodi do progresije u kronične oblike koji se manifestiraju doživotno smanjenom funkcijom.¹

U mlađoj fizički aktivnoj populaciji te ozljede mijenjaju način života, a za primjerice profesionalne sportaše znače i prijelaz iz faze pune životne aktivnosti k svojevrsnoj mirovini. Ozljede mišićnotetivnog sustava imaju sveukupno incidenciju od oko 106/100 000 u generalnoj populaciji uz napomenu da je prisutna izražena predispozicija u muškoj populaciji u odnosu na žensku -166/100 000 za muškarce u odnosu na 52.1/100 000 kod žena.¹

Distribucija po dobi također ima svoje posebnosti u odnosu na spolne razlike tako da je najveća učestalost kod muškaraca u dobi od oko 20 godina i iznosi do čak 257/100 000 da bi onda krenula linearno opadati te se izjednačiti s učestalošću kod žena u sedamdesetim godinama života.¹



Slika 1. Incidencija ozljede mekih tkiva prema dobi i spolu

(preuzeto iz: Clayton RA, Court-Brown CM. The epidemiology of musculoskeletal tendinous and ligamentous injuries. *Injury*. 2008 Dec;39(12):1338-44)

Ovakva je distribucija posljedica aktivnijeg načina života muškaraca odnosno profesionalne i rekreativne izloženosti ozljedama muskuloskeletnog sustava. Epidemiološka analiza mišićnotetivnih ozljeda ukazuje na još jednu karakteristiku koja ih razlikuje od primjerice prijeloma, a to je da ova vrsta ozljeda ima izrazito veliku incidenciju u mlađih pacijenata za razliku od primjerice prijeloma čija incidencija izrazito raste u starijoj dobi.

Najčešća ozljeda muskuloskeletnog sustava je ozljeda meniska s incidencijom od 23/100 000, slijede ozljede ekstenzornog aparata podlaktice ili šake s 18/100 000. Na trećem mjestu po učestalosti su ozljede akromioklavikularnog zgloba s 14.5/100 000, Ahilove tetive s 11/100 000 te ozljede prednje križne sveze 8/100 000.¹ Navedeni podaci ilustriraju distribuciju ozljeda u generalnoj populaciji. Epidemiološke analize provedene na pojedinim specifičnim populacijama kao što su na primjer aktivni sportaši ili nogometaši pokazuju izrazit pomak u smislu puno veće incidencije ozljeda za pojedini sport specifičnih ozljeda. Tako se primjerice incidencija ozljede prednje križne sveze penje i do 100 na 1000 ispitanika koji se profesionalno bave nogometom². Postotak nogometaša s ozljedom prednje križne iznosi 1,3% za muške i oko 3,7% za žene.³

U zadnjem je desetljeću objavljen velik broj radova koji za temu imaju ozljedu tetiva i ligamenata, a posebno prednje ukrižene sveze koja je s obzirom na važnost koljena kao zgloba posebno dobro obrađena, pa smo se i u sklopu našeg istraživanja fokusirali na pacijente s ozljedom upravo prednje ukrižene sveze.

Ozljeda prednje križne sveze uglavnom je karakteristika mlađe životne dobi. Incidencija ruptur prednje križne sveze niska je u općoj populaciji rekreativaca, 1 na 10000 sati sportske aktivnosti, dok je kod aktivnih rekreativaca i profesionalaca deset puta veća.⁴

Dobro je dokumentirana činjenica da je rani nastanak osteoartritisa čest u pacijenata koji imaju ozljedu prednje križne sveze što se pak dovodi u vezu s udruženim ozljedama meniska, multiligamentarnim pridruženim ozljedama i ozljedama hrskavice. Uzročno-posljedična veza još se uvijek propituje u smislu da se uz instabilitet koljena koji nastaje kao posljedica ozljede u novijim radovima kao izrazito važan faktor spominje i primjerice kontuzija hrskavice koja je po nekim istraživanjima prisutna i u do 100% pacijenata sa rupturom prednje križne sveze već nakon inicijalnog traumatskog događaja.⁵

Promjena načina hoda, akutna upala u zglobu, udružena ozljeda meniska kod inicijalne lezije također se spominju kao faktori koji u različitoj mjeri doprinose oštećenju hrskavice.

1.2. Faktori rizika za rupturu prednje ukrižene sveze

Faktore rizika koji doprinose ozljedi možemo podijeliti u intrinzičke i ekstrinzičke. Intrinzički faktori za ozljedu vezani su uz karakteristike pojedinca koji je izložen ozljeđivanju te ih možemo nadalje izdvojiti u anatomske, hormonske, neuromuskularne i one vezane uz obiteljsku predispoziciju. Ekstrinzički faktori su s druge strane oni koji su povezani s okolinom. Tema mog proučavanja u sklopu disertacije su upravo intrinzički faktori odnosno preciznije faktori vezani uz obiteljsku predispoziciju, tj. genetsku sklonost.

Multifaktorijalnost je temeljna odrednica kod ozljede prednje križne sveze i kao takva je do sada temeljito istraživana, a rezultati tih brojnih studija ponekad su u proturječju.

1.2.1. Vanjski faktori rizika za ozljedu prednje ukrižene sveze

Vanjski faktori rizika odnosno ekstrinzički predominantno su vezani uz faktore okoline tako da je do sada utvrđena povezanost vremenskih prilika uz učestalost ozljeda, odnosno implicirana je veća učestalost ozljede u uvjetima suhog vremena, primjerice u nogometu, nego za vrijeme vlažnog vremena što je objašnjeno kao posljedica većeg trenja i većeg momenta sile koji djeluje na ligament u suhim uvjetima.⁶⁻⁹ Također, interakcija podloge i obuće nametnula se kao logičan faktor rizika što je i potvrđeno u studijama koje su našle veću učestalost ozljede na pojedinim tipovima travnate podloge te na dvoranskim podlogama.¹⁰ Tip obuće koji sportaš nosi također je bitan kao potencijalni faktor rizika jer značajno mijenja kontakt s podlogom. Broj, oblik i pozicija čepova na kopačkama nogometaša je povezana sa učestalošću ozljede sportaša.¹¹

1.2.2. Unutarnji faktori rizika za ozljedu prednje ukrižene sveze

Unutarnji odnosno intrinzički faktori su puno bolje proučeni te ih većina autora dijeli na anatomske faktore, genetske, hormonske, biomehaničke i neuromuskularne faktore rizika.

1.2.2.1. Anatomske faktori

U korelaciju s ozljedom doveden je promjer interkondilarne udubine, odnosno njeno suženje. Implicirano je da uska udubina djeluje na ligament u smislu impingementa, a također i da je ligament kod uskih udubina smanjenog presjeka što je onda dovedeno u korelaciju s većim rizikom ozljede.¹² Provedene MRI studije ozlijeđenih koljena pokazuju da je strmiji tibijalni (slope) plato i plići medijalni plato također vezan uz veći rizik za ozljedu.¹³ Generalizirana hipermobilnost svih zglobova te zgloba koljena, visoki BMI>30 i široki Q kut također su navedeni kao značajni anatomske faktori za ozljedu.¹⁴⁻¹⁷ Sam promjer prednje ukrižene sveze također je prema nekim studijama neovisan anatomske faktor i kod ljudi s manjim promjerom ligamenta doprinosi predispoziciji za ozljedu.¹⁸

1.2.2.2. Genetski faktori

Na temelju proučavanja obiteljske anamneze pacijenata s rupturom ACL-a došlo se do pouzdanog zaključka da postoji obiteljska predispozicija za rupturu kod onih čiji su srodnici također imali neki oblik rupture ligamenata ili tetiva u prošlosti.¹⁹ U novije vrijeme dostupnost DNA analize dovela je i do povećanog interesa za istraživanje uloge genetske podloge u predispoziciji za ozljedu prednje ukrižene sveze. Uloga genetike je implicirana i u studijama ozljede Ahilove tetive i tetive supraspinatusa. Od 2005. do 2010. Objavljeno je nekoliko radova na tu temu koji su pobliže analizirali gene COL1A1, COL5A1, COL12A1, Tenascin C gena i sklonost prema ozljeđivanju mekih tkiva.²⁰⁻²²

1.2.2.3. Spol kao faktor rizika

Odavno utvrđena činjenica da su žene sklonije rupturi prednje križne sveze ponukala je istraživače da preispitaju ulogu hormonalnih faktora u predispoziciji za ozljedu. Utvrđena je veća učestalost ozljede u preovulatornom stadiju menstrualnog ciklusa.²³ Spolni hormoni su povezani i s povećanom mlohavošću koljena, a upotreba peroralnih kontraceptiva povezana je prema nekim studijama s povećanom dinamičkom stabilnošću koljena i manjom incidencijom ozljede.^{24, 25} Sposobnost estrogena i progesterona da modificiraju sintezu kolagena dokazana je na animalnom i humanom modelu. Estradiol inhibira funkciju fibroblasta i sintezu prokolagena tipa I, dok progesteron djeluje antagonistički.²⁶

1.2.2.4. Neuromuskularni faktori rizika

Stabilnosti zglobova uz koštanoligamentarni aparat značajno doprinosi i tonus okolnih mišića, odnosno statička komponenta stabilnosti je posljedica strukture kosti i zgloba dok je dinamička stabilizacija posljedica mišićne aktivnosti.^{27, 28} Skupine agonista i antagonista važne su u održavanju pravilnog obrasca svih motoričkih aktivnosti i od vitalne su važnosti za stabilnost zglobova. Proučavanje neuromuskularnih jedinica u regiji koljenskog zgloba ukazuje na velik utjecaj pravilnih obrazaca kontrakcije u prevenciji ozljeda u ovoj regiji. Izolirana kontrakcija kvadricepsa izrazito povećava opterećenje unutar prednje križne sveze, dok, npr. u kombinaciji s kontrakcijom hamstringa to opterećenje bude puno manje te samim time djeluje protektivno na ligament.²⁹ Sukladno tome oslabljeni mišići stražnje lože ili izostanak njihovog djelovanja u određenim situacijama doprinosi ozljedi. Osim disbalansa u kontrakciji prednje i stražnje lože kao važan doprinos neuromuskularnoj kontroli treba navesti i propriocepciju te krutost mišića. Proprioceptivne vježbe su uspješno uključene u program rehabilitacije nakon ozljede prednje križne kao i u preventivne programe kada mogu smanjiti učestalost ozljeđivanja.³⁰ Propriocepcija ima i ulogu u refleksnom luku na način da kada je prednji križni ligament istegnut, preko proprioceptora se aktivira refleksni luk preko kojega kontrakcija hamstringa agonističkim djelovanjem pruža potporu ligamentu.

1.2.2.5. Mišićna krutost i otpornost na umaranje

Mišićna krutost i otpornost na umaranje je također implicirana kao faktor rizika u neuromuskularnim ispitivanjima gdje je pokazano i da žene imaju znatno manju krutost u odnosu na muškarce odnosno da muškarci ranije aktiviraju mišiće donjih ekstremiteta i dulje ih zadržavaju napetim u situacijama kad je potrebna dinamička stabilizacija donjih ekstremiteta.^{31, 32} Mišićni umor također kao posljedicu ima smanjenu dinamičku stabilizaciju odnosno apsorpciju mehaničke sile što izlaže ligamente i kosti povećanim silama i samim time mogućnosti ozljeda.³³ U prilog neuromuskularnih faktora i njihove uloge u ozljeđivanju govori i činjenica potvrđena u studijama da se preventivnim neuromuskularnim vježbama može smanjiti rizik za ozljeđivanje prednje križne sveze.³⁴ Stoga su i preporuke da sportaši prolaze sportu prilagođen neuromuskularni trening kako bi se učestalost ozljede svela na minimum.³⁵

1.2.2.6. Biomehanički faktori rizika

Biomehanički faktori opisuju djelovanje sila tijekom pokreta koje onda različito djeluju na naprezanja u različitim dijelovima zglobova. Biomehaničke studije provedene na kadaverima s mjerenjima apsolutnih i relativnih iznosa sila, videoanalize brojnih situacija u kojima su nastale ozljede identificirale su specifične položaje tijela koji najviše predisponiraju za ozljede.³⁶⁻³⁸ Što su koljena i kukovi više flektirani prilikom doskoka, to je sila koja se prenosi prilikom doskoka manja. Također je bitno naglasiti da je kutna brzina kod doskoka vrlo bitna za smanjenje opterećenja na zglobove odnosno i bitnija nego apsolutan iznos kuta fleksije. Strukturalne čvrstoća prednje ukrižene sveze maksimalno dolazi do izražaja prilikom odolijevanja uzdužnom opterećenju dok je najmanje otporna na neaksijalno opterećenje.³⁹ U manjim stupnjevima fleksije kvadriceps primjerice više opterećuje prednju križnu svezu jer mu hamstringsi i struktura LCA pružaju najmanji otpor.

1.2.3. Najčešći mehanizmi ozljede

Najviše ozljeda nastaje kod doskoka blizu ili u punoj ekstenziji, kod usporavanja iz trka ili pak kod brze promjene smjera trčanja, npr. dribling u nogometu uz naglo usporavanje. Valgus opterećenje na koljeno zajedno s vanjskom rotacijom fiksirane potkoljenice uz forsiranu ekstenziju proizvodi pomak prema naprijed te kao posljedicu u ekstremnom slučaju ima rupturu prednje ukrižene sveze.³⁶ Također, ekstremna ekstenzija i fleksija mogu rezultirati puknućem ligamenta. Ozljeda se može dogoditi tijekom kontakta s drugim igračem ili, što je češće, bez kontakta.⁴⁰ Takozvane nekontaktne ozljede čine većinu odnosno 70% do 84% sveukupnih ozljeda.⁴¹



Slika 2. Retrospektivna identifikacija situacija opasnih za ozljedu uz pomoć videosnimka (preuzeto iz: Boden BP, Dean GS, Feagin JA Jr, Garrett WE Jr. Mechanisms of anterior cruciate ligament injury. Orthopedics. 2000 Jun;23(6):573-8.)

Biomehaničke studije na kadaverima su pokazale da je upravo kombinacija pokreta u koljenu ta koja izlaže ligament ekstremnoj napetosti odnosno fleksija, ekstenzija, unutarnja i vanjska rotacija kada su simultano prisutne značajno povećavaju mehaničku silu na ligament i samim time češće dovode do pucanja.³⁷

1.3. Posljedice ruptуре prednje ukrižene sveze (nestabilno koljeno)

Koljeno s rupturiranom prednjom ukriženom svezom postaje nestabilno te dolazi do daljnje progresije ozljeda, odnosno do ubrzanog propadanja meniska, hrskavice te ranog osteoartritisa. Puknuće ima za posljedicu povećanu prednju translaciju tibije koja pak ima za posljedicu pojačano trošenje odnosno mikrotraume prije svega stražnjeg roga medijalnog meniska koji biva u opterećenju „ukliješten“ između femoralnog i tibijalnog kondila, a posljedica čega su njegove promjene u vidu mikroruptura koje kasnije prelaze u kompletne rupture. Povezanost ozljede medijalnog meniska s nestabilnim koljenom je dobro dokumentirana u brojnim radovima pa se navodi i podatak da je kod pacijenata s rupturom prednje križne sveze postotak ozljede medijalnog meniska nakon 10 godina i do 100%.^{42, 43} Degenerativne promjene su uglavnom locirane u medijalnom kompartmentu koljena te je lateralni menisk puno rjeđe zahvaćen od medijalnog. Rezultati rekonstruktivnih zahvata su bolji kod mladih pacijenata i izrazito su u korelaciji s dodatnim ozljedama unutar koljena, posebno s ozljedom meniska odnosno meniscektomijom i ozljedom hrskavice koje, ako su prisutne kod rekonstrukcije, znatno pogoršavaju dugoročni rezultat operacije. Idealni tajming rekonstrukcije trebao bi biti unutar 6 mjeseci od ozljede zbog znatno veće proporcije uspješnih šivanja meniska unutar tog vremenskog perioda. Odgođene rekonstrukcije kod pacijenata s ozlijeđenim meniscima rezultiraju lošijim dugoročnim rezultatom zbog većeg postotka meniscektomija.⁴⁴

Ozljeda medijalnog meniska odnosno učinjena meniscektomija kod pacijenata s ozljedom prednje križne sveze značajno pogoršava prognozu u smislu veće učestalosti kasnijeg osteoartritisa koljena.⁴⁵ Kod pacijenata s izoliranom ozljedom ta je učestalost do 13%(0-13%), dok je kod udružene ozljede i do 48%.⁴⁶ Nasuprot tome šivanje meniska i rekonstrukcija prednje križne sveze doprinosi stabilnosti koljena i smanjuje učestalost osteoartritisa koljena.^{47, 48}

Problem osteoartritisa te njegova učestalost kod ozlijeđenih je ekstenzivno proučena.² Zadnjih godina je fokus proučavanja stavljen na do tada zanemarivan, patelofemoralni dio zgloba. Patelofemoralni artritis i prednja koljenska bol koju znatan postotak pacijenata ima nakon rekonstrukcije je proučavan kod rekonstruiranih i nerekonstruiranih pacijenata. Iako su se do sada studije uglavnom fokusirale na tibiofemoralni zglob, uočeno je da je simptomatologija i pojavnost femoropatelnog osteoartritisa nakon rekonstrukcije veća u odnosu na neoperirane pacijente. Kod konzervativno liječenih pacijenata, bez rekonstrukcije, praćenih u razdoblju od 15 godina, učestalost femoropatelarne artroze je procijenjena na oko 16%, dok je kod rekonstruiranih učestalost čak i veća (23%).^{49, 50} Prelaskom s patelnog grafta na tetive hamstringsa očekivalo se (s obzirom na to da se radi o drugoj davajućoj regiji) da će se simptomatologija značajno smanjiti, međutim studije ne govore o značajnom smanjenju prednje koljenske boli kod upotrebe drugih graftova odnosno osteoartritis patelofemoralnog zgloba ostaje i dalje značajan izvor tegoba.^{50, 51} Razlozi koji su implicirani su inflamatorna reakcija te inicijalno oštećenje hrskavice kod početne traume u patelofemoralnom zglobu te kao potencijalno važan faktor promjena opsega pokreta odnosno smanjenje ekstenzije koje izlaže patelofemoralni zglob konstantnom opterećenju.

Kod aktivnih sportaša koji se nastave baviti sportom na istoj razini kao i prije ozljede posljedice ozljede su još i teže te oni u velikom postotku (50%) završe s protezom koljena u mlađoj životnoj dobi.⁵² Produljeni period od ozljede do rekonstrukcije doprinosi ubrzanom propadanju koljena.^{44, 53}

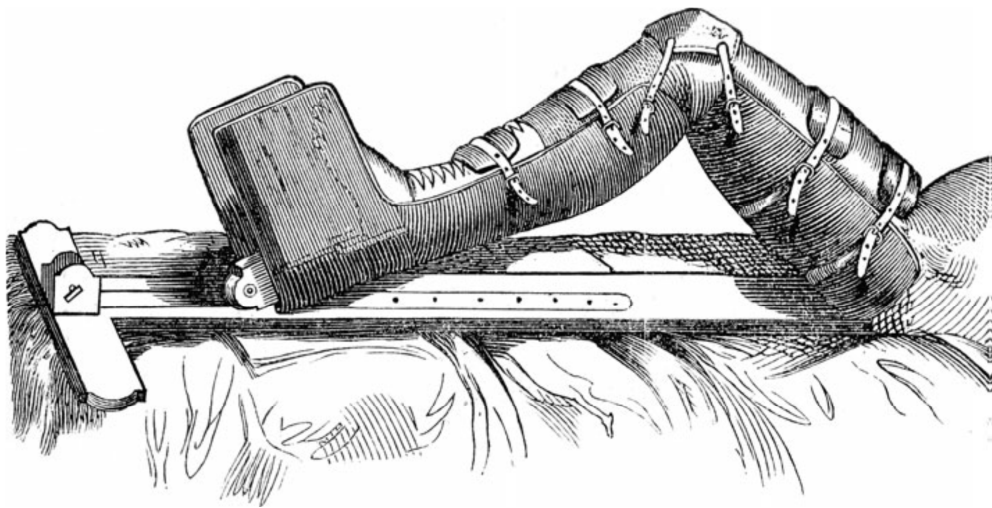
S obzirom na progresiju osteoartritisa nakon rekonstruktivnog zahvata usprkos poboljšanoj biomehanici zgloba proučavana je i potencijalna uloga poremećene biokemijske homeostaze intraartikularne tekućine koja se dešava nakon ozljede koljena. Grupa autora je identificirala značajno perzistentno sniženje razine antagonista receptora za IL 1 te povišene razine IL 6, TNF beta, keratan sulfata, CSF-a koje su bile takve i godinu dana nakon ozljeđivanja.^{54, 55}



Slika 3. Uznapredovale gonartrotske promjene zgloba koljena

1.4. Metode rekonstrukcije prednje ukrižene sveze kroz povijest

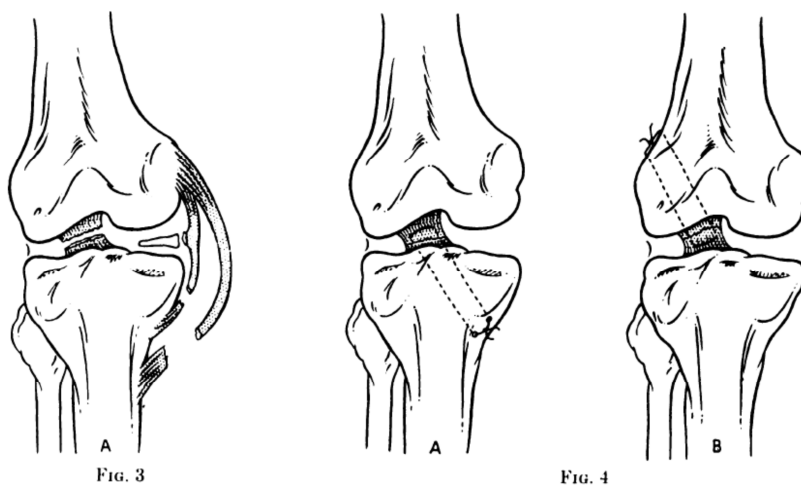
Prvi opisi pacijenata s „unutarnjim ozljedama“ koljena, što je u to vrijeme bio zajednički nazivnik za širok spektar ozljeda, potječu iz 19. stoljeća od strane Roberta Adamsa iz 1837., francuskog kirurga Bonneta iz 1845. te liječnika opće prakse iz Engleske Johna Starka koji je također opisao dva slučaja.⁵⁶⁻⁵⁸ S obzirom na slabo razvijene kirurške tehnike te antibiotsku profilaksu, liječenje je bilo uglavnom konzervativno.



Slika 4. Ortoza za konzervativno liječenje ozljeda ligamenata koljena

(preuzeto iz: Schindler OS1. Surgery for anterior cruciate ligament deficiency: a historical perspective. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Jan;20(1):5-47)

Prvi primjeri operativnog liječenja datiraju s kraja 19. stoljeća, odnosno iz 1895. kada je Arthur Mayo Robinson sašio ligament kod svog pacijenta 42-godišnjeg rudara.⁵⁹ Početkom 20. stoljeća Hey Groves iz Bristola je upotrijebivši presadak fascije late kao pojačanje rekonstruirao puknuti prednji križni ligament. Georg Perthes iz Tubingena (1869.–1927.) je opisao tehniku koja u određenim slučajevima ozljede ima i danas svoje mjesto - proživši avuldirani bataljak bušenjem koštanih tunela učinio je reinserciju ligamenta za femoralno hvatište. Kirurzi tog doba uglavnom su pokušavali sašiti ligament te suočeni s nemogućnošću šivanja zbog prevelike destrukcije pokušavali su na razne načine pojačati rekonstrukciju šavovima. Početak upotrebe presatka u rekonstrukciji bila je upotreba fascije latae odnosno korištena je kao pojačanje direktnog šava tetive.^{60, 61} Erwin Payr je upotrijebio fasciju kao nadomjestak koji je inkorporirao između dva puknuta dijela ligamenta za razliku od Perthesa koji je radio „nepojačanu“ rekonstrukciju te je svoje rezultate objavio.⁶² Tijekom 50-ih i 60-ih godina 20. stoljeća veliki doprinos popravku rupturiranog ligamenta dao je Don O'Donoghue iz SAD-a koristeći modificiranu Hey Grovesovu tehniku koristeći umjesto fascije late konac od svile kojim je prošio ligament pa ga provukao kroz koštane kanale.⁶³



Slika 5 - O'Donoghue metoda popravka puknutog ligamenta

(preuzeto iz: O'Donoghue DH. Surgical treatment of fresh injuries to the major ligaments of the knee. J Bone Joint Surg Am 1950;32 A:721-738.)

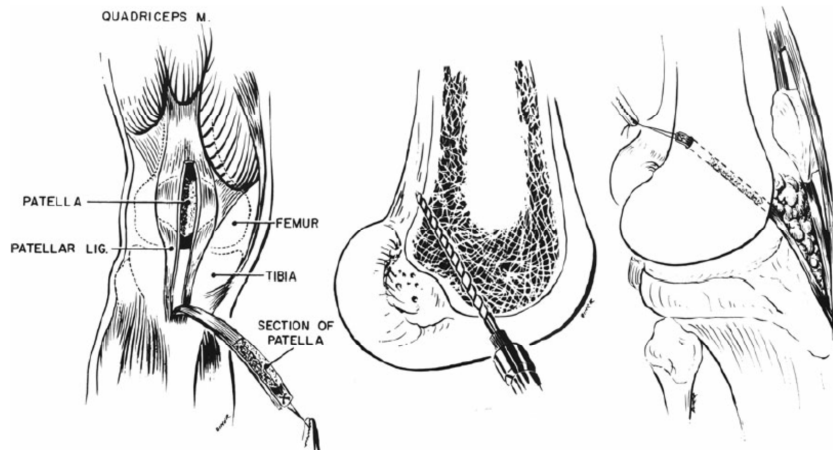
U 80-im godinama nastavlja se popravak šavovima po uzoru na Perthesa i Hey Grovesa da bi početkom 90-ih godina bio ocijenjen kao inferioran te zamijenjen rekonstrukcijama pomoću presatka.⁶⁴ Ovdje je potrebno napomenuti da se primarna rekonstrukcija upotrebom šavova i sidara posljednjih godina pokušava preispitati. Grupa autora iz Berna je 2015. g. objavila rad gdje je opisala primarnu rekonstrukciju ozlijeđenih križnih sveza šavovima i upotrebom dinamičke intraligamentarne stabilizacije (DILS).⁶⁵

Osim šivanja ligamenata paralelno se tijekom 20. stoljeća pojavila tehnika rekonstrukcije ligamenta presatkom. Pošto je utvrđen vrlo slab potencijal ukrižene sveze za cijeljenje, zbog specifične vaskularizacije, logično su se nametnule druge opcije za postizanje stabilnosti koljena. S jedne strane to su bile ekstraartikularne stabilizacije koje su propagirali MacIntosh, Losee i Andrews.⁶⁶⁻⁶⁸ S druge strane razvijale su se intraartikularne metode rekonstrukcije upotrebom presadaka.

Ekstraartikularne metode su nakon početnog zamaha napuštene jer nisu davale zadovoljavajuću stabilnost odnosno s vremenom su zbog istezanja struktura rezultati bili sve lošiji. Danas je njihova upotreba vezana uz „pojačanje“ intraartikularnih rekonstrukcija.⁶⁹

Ranije spomenuti Hey Groves bio je jedan od pionira rekonstrukcije graftom odnosno upotrijebio je vezani graft fascije late koji je ostavio proksimalno vezan te ga provukao kroz anatomske pozicionirane tunele i fiksirao za tibijalno hvatište. Zanimljivo je da je već tada dr. Groves bio svjestan potrebe repliciranja izvornog tijeka ligamenta odnosno ukošenog smjera niže položenog femoralnog tunela u intekondilanoj udubini. Skoro 100 godina kasnije je potvrđena superiornost rotatorne stabilnosti koju ta orijentacija pruža u odnosu na vertikalnu poziciju tunela.⁷⁰

Značajna godina za napredak tehnike rekonstrukcije je 1963. kada je Kenneth Jones objavio novu rekonstruktivnu metodu koja je koristila presadak djelića patelarne tetive s koštanim fragmentom na proksimalnom kraju te je ta metoda stekla znatnu popularnost.⁷¹ Originalna tehnika se sastojala u mobiliziranju grafta patelarne tetive s koštanim dijelom patele koji je ostavljen pričvršćen za tibijalno hvatište. Iako je prednost bila ostatak fiksacije na tibiji i teoretska propriocepcija graft je bio prekratak da bi se anatomske fiksirao te je hvatište pomaknuto iz anatomske pozicije visoko u interkondilarnu udubinu. Usprkos neanatomskom pozicioniranju tunela tehnika je zadobila popularnost te se jedno vrijeme intenzivno primjenjivala.



Slika 6. Ilustracija izvorne tehnike kako ju je 1963. g. prikazao Kenneth Jones

(preuzeto iz: Schindler OS1. Surgery for anterior cruciate ligament deficiency: a historical perspective. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Jan;20(1):5-47)

Daljnja poboljšanja te tehnike donijeli su Bruckner i Clancy te Franke koji je počeo koristiti slobodni BPTB (bone-patellar tendon-bone) presadak.⁷²⁻⁷⁴ Walter Blauth iz Kiela je 1984. g. prvi objavio upotrebu tetive kvadricepsa kao grafta originalno razdjelivši tetivu iznad koštanog fragmenta na dva snopa kako bi bio pogodan za anatomskiju rekonstrukciju.⁷⁵ Kao vrlo popularan graft koji izdržljivošću nadilazi BPTB, u zadnjem desetljeću se u rekonstrukciji nameću tetive hamstringsa. Prvi opis rekonstrukcije upotrebom semitendinozusa potječe iz 1937. g., a autor mu je Riccardo Galeazzi.⁷⁶ Tetivu je također upotrijebio kao distalno vezanu, a tunele je kod rekonstrukcije pozicionirao anatomske. Lindeman i Augustine su promovirali koncept dinamičke rekonstrukcije na način da su upotrebljavali tetive gracilisa i semitendinozusa koje su bile vezane proksimalno odnosno imale su dijelom očuvanu vaskularizaciju i propriocepciju. Godine 1984. g. Villiger je objavio rezultate 250 rekonstrukcija koristeći Linedmannovu tehniku s praćenjem od prosječno 3 godine gdje je 80% pacijenata ocijenilo rezultat rekonstrukcije kao dobar ili vrlo dobar.⁷⁷ Metoda artroskopske rekonstrukcije tetivama iz koje proizlazi i naša metoda rekonstrukcije opisana je od strane Marka Friedmana 1988. g.⁷⁸ Rekonstrukcija po Kenneth Jonesu je zbog kratkog vezanog grafta uvjetovala postupno pomicanje femoralnog hvatišta visoko u notch odnosno u neanatomsku poziciju. Međutim ta je praksa ostala i kad je graft bio upotrebljavan kao slobodan. Veliki utjecaj na vraćanje anatomskom pozicioniranju grafta koji smo koristili i kod naših pacijenata imao je Freddie Fu sa svojim publikacijama.^{79, 80}

Paralelno s upotrebom autograftova, a kako bi se izbjegao morbiditet donorskog mjesta, alternativa presatku od vlastitog tkiva tražena je u alograftima i sintetskim materijalima s rezultatima koji su prema današnjim studijama inferiorni u odnosu na vlastito tkivo. Upotreba alografta je povezana s mogućnošću prenošenja bolesti od donora, urastanje grafta u kost je sporije, a pokazana je i četiri puta veća sklonost k rupturi grafta nego li kod upotrebe vlastitog tkiva.^{81,82} Upotreba sintetskih materijala oduvijek je predstavljala zanimljivu opciju u kirurgiji zbog lake dostupnosti, izbjegavanja morbiditeta donorskog mjesta, a materijali upotrijebljeni za rekonstrukciju mogli su biti i čvršći nego vlastito tkivo. Prvi pokušaji upotrebe sintetskog materijala u rekonstrukciji prednje križne sveze vezani su za kraj 19. i početak 20.stoljeća. Njemački autor Lange prvi je upotrijebio svilu za pojačanje semitendinozusa koji je koristio u rekonstrukciji.^{83,84} U drugoj polovici 20. stoljeća u komercijalnoj upotrebi je bio primjerice dakron koji je naizgled nudio sve uobičajene prednosti sintetskog materijala, ali je na kraju zbog visokog postotka propadanja, odnosno neinfektivnog sinovitisa, kod rekonstrukcija povučen iz proizvodnje početkom 90-ih godina.^{85, 86} Pregled brojnih sintetskih graftova koji su ušli u komercijalnu upotrebu dan je u radu Plitza iz 1983. g. gdje je od 50 testiranih graftova svega jedan zadovoljio potrebe rekonstrukcije.⁸⁷ Napretkom tkivnog inženjeringa i nanotehnologije u skorijoj budućnosti je za očekivati nove pokušaje rekonstrukcije alograftovima čija bi svojstva mogla biti jednaka ako ne i bolja od vlastitih tetiva.^{88, 89}

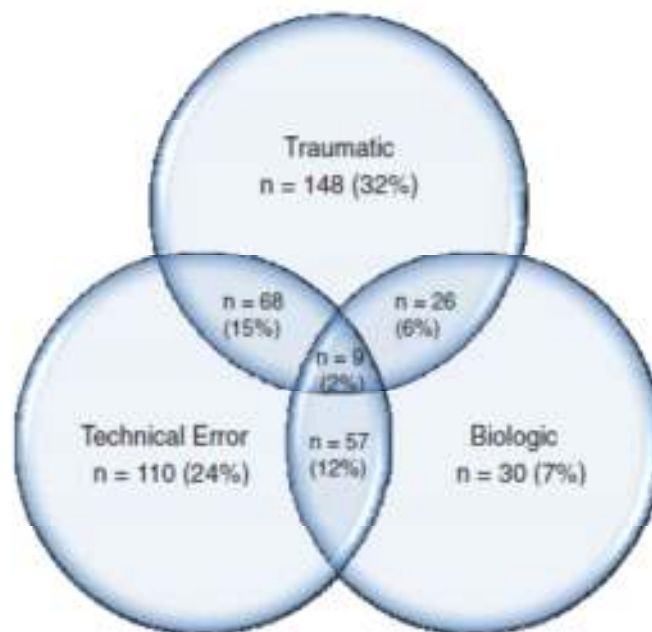
Suvremeni trendovi u rekonstrukciji izbacili su u prvi plan tetive semitendinozusa i gracilisa, patelarnu tetivu i tetivu kvadricepsa sa u zadnje vrijeme prevladavajućim uzimanjem tetiva semitendinozusa i gracilisa. Velika usporedba rezultata rekonstrukcija s patelarnim tetivama i tetivama „hamstringa“ daje prednost patelarnoj tetivi u smislu stabilnosti poslije rekonstrukcije, dok je s druge strane prednja koljenska bol i oslabljena ekstenzija čest problem. Rekonstruirani tetivama hamstringa imaju nešto lošije rezultate ispitivanja stabilnosti, ali su po rezultatima ispitivanja IKDC ocjenske ljestvice unutar statističke pogreške.⁹⁰

1.5. Problem ponovljene ozljede nakon operativnog zahvata i njezini uzroci

Slučajevi ponovne ozljede odnosno puknuća grafta predstavljaju sve značajniji problem s obzirom na rastući broj rekonstrukcija. Postotak ruptura graftova varira prema

radovima od niskih 2% pa i do 24%.^{91, 92} Revidirane rekonstrukcije po rezultatima su lošije i u pogledu funkcionalnog rezultata mjenog kroz IKDC ocjensku ljestvicu (sniženje za prosječno 10 bodova), a primijećena je i značajno veća incidencija rerupture grafta (4 do 5x veća).⁹³

Prema nedavno provedenoj MARS (Multi center ACL Revision Study) studiji uzroci rerupture grafta mogu se podijeliti u tri skupine te se mogu i međusobno preklapati.^{94, 95} Tehničke pogreške podrazumijevaju pogrešno pozicioniranje tunela, način fiksacije grafta, impingement grafta i prenapinjanje grafta. Preagresivna rehabilitacija ili ponovna ozljeda su također vrlo česti uzroci ruptur grafta.⁹⁶ Proučavanjem „ligamentizacije“ presatka uočeno je da se ponekad događa da presadak jednostavno „biološki“ bude odbačen te se i histološki u odnosu na ligamentizirane presatke mogu pronaći dokazi avaskularne nekroze i hipercelularnosti.⁹⁷



Slika 7. – Uzroci neuspjeha rekonstrukcije

(preuzeto iz: MARS Group, Wright RW, Huston LJ, Spindler KP, i sur. Descriptive epidemiology of the Multicenter ACL Revision Study ⁹⁸ cohort. Am J Sports Med. 2010 Oct;38(10):1979-86.)

Značaj genetske predispozicije kod ozljeda prednje križne sveze nije detaljno istražen niti dokumentiran kao što je slučaj s ostalim predisponirajućim faktorima za ozljedu, a

potencijalne prednosti prepoznavanja skupine pacijenata s genetskom predispozicijom za ozljedu mogle bi ponuditi individualiziraniji pristup u smislu promjene izbora graftova i kod revizijskih zahvata, a također potencijalno i kod inicijalnih rekonstrukcija.

Genetska predispozicija za ozljedu tetiva i ligamenata odnosno mekih tkiva već je do sada pouzdano dokazana u vidu postojanja pozitivne obiteljske anamneze kod pojedinih pacijenata s rupturama prednje križne sveze i ozljedama rotatorne manšete tako da pacijenti s ozljedom ACL-a na primjer imaju pozitivnu obiteljsku anamnezu u 35% slučajeva, dok je u općoj populaciji taj postotak svega 4%.^{19, 99}

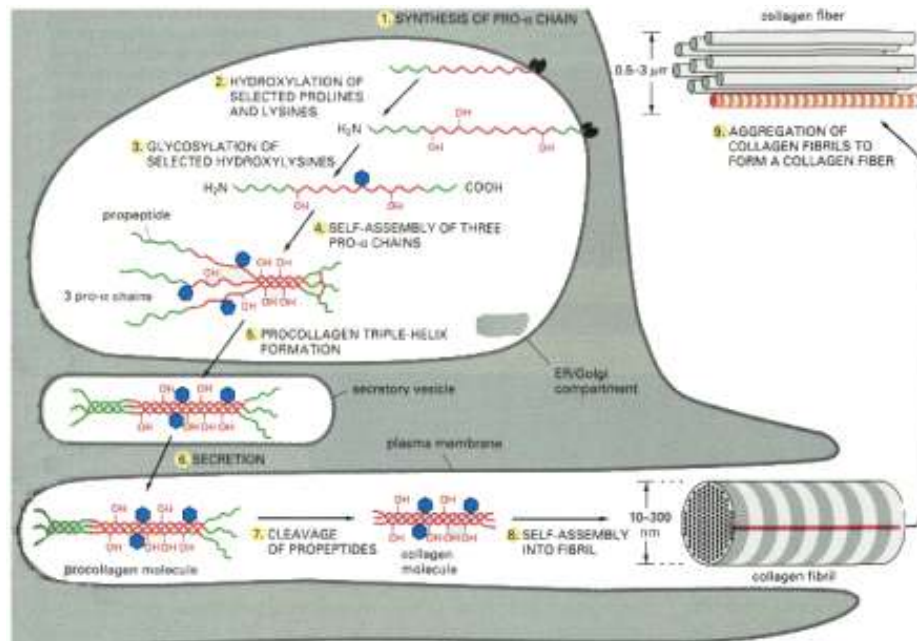
Više genetskih polimorfizama do sada je dovedeno u vezu s predispozicijama za ozljede. Do sada identificirani polimorfizimi uključuju sljedeće gene: COL5A1, MIR608, COL1A1, COL12A1, TNC, GDF5, CASP8 i MMP12.

1.6. Sinteza i karakteristike kolagena tipa I

Kolagen tipa I je najzastupljeniji kao građevni element tetiva i ligamenata te čini do 95% sveukupnog kolagena u tijelu donosno 65 - 80% suhe mase kolagena. Kolagen tipa 1 je heterotrimer sastavljen od dva alfa 1 lanca i jednog alfa 2 lanca koji se međusobno povezuju. Alfa 1 lanci su kodirani genom COL1A1 smještenim na lokusu 17q21.33, dok je alfa 2 lanac kodiran genom COL1A2 smještenim na lokusu 7q22.1.

Proces sinteze kolagena je prema brojnim autorima među najsloženijim procesima u ljudskom tijelu i kreće u staničnoj jezgri, a u slučaju kolagena tipa I uključeni su kromosom 17 (alfa 1 lanac) i kromosom 7 (alfa 2 lanac). Promotor gena je mjesto koje ima veliki afinitet za RNA polimerazu i on sudjeluje u inicijaciji procesa na način da se vezanjem na promotor inicira prepisivanje gena za alfa 1 i alfa 2 lance posredstvom RNA polimeraze u pro alfa1 i pro alfa 2 messenger RNA koja onda izlazi iz jezgre te se veže na endoplazmatski retikulum gdje se „prevodi“ u redosljed aminokiselina. Tako nastaju molekule prokolagena koje sadrže amino i karboksi nastavke koji ove molekule čine izrazito topljivima u vodi.¹⁰⁰ Ove molekule prokolagena su ravne, vrlo lako mobilne s obzirom na svoju topljivost u vodi te dolaze u Golgijev aparat gdje prolaze kroz brojne posttranslacijske promjene i luče se u međustanični prostor.¹⁰¹ Enzimi zvani prokolagen proteinaze odstranjuju amino i karboksi nastavke te tako formiraju molekule kolagena. Na aminoterminalnom kraju molekula kolagena formiraju se

disulfidne veze koje omogućuju udruživanje odvojenih lanaca u strukturu trostruke uzvojnice te omogućuju da lanci međusobno zauzmu pravilan položaj. Taj se proces naziva registracija i odvija se u međustaničnom prostoru. Nadalje dolazi do spajanja tih trostrukih uzvojnica u fibrile i vlakna uz pomoć enzima lizil-oksidadze koji stimulira međusobno povezivanje intra i inter molekularnim vezama koje na kraju rezultiraju strukturom čija se čvrstoća može usporediti s onom čelika.¹⁰² Taj konačni proces stvaranja kolagena naziva se *cross linking*.



Slika 8. Unutarstanični i vanstanični proces sinteze kolagena

(preuzeto iz: Alberts B, Johnson A, Lewis J, i sur. Molecular Biology of the Cell. 4. izd. New York: Garland Science; 2002, str.851)

1.6.1. Utjecaj polimorfizma gena na sintezu kolagena tipa I

Sinteza kolagena tipa I regulirana je COL1A1 i COL1A2 strukturnim genima uz kontrolu na nivou transkripcije gena. Mutacije u strukturi samih gena dovode do klinički manifestnih poremećaja u smislu strukturalnih slabosti građevnih elemenata tkiva te se manifestiraju kao osteogenesis imperfecta ili Ehlers-Danlos sindrom.¹⁰³ Međutim razlike u regulaciji transkripcije mogu biti i na nivou Sp1 veznog mjesta u smislu polimorfizma tog veznog mjesta što je proučavano u nekoliko studija koje su obuhvatile više različitih populacija. Tako je polimorfizam Sp1 veznog mjesta doveden u korelaciju s infarktom miokarda, bolešću intervertebralnog diska, urinarnom stres inkontinecijom te osteoporozom.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ U provedenim studijama identificiran je polimorfizam u jednoj bazi gdje

se guanin zamjenjuje timinom (G→T) te je u odnosu na prisutnu promjenu proučavana sklonost za određeno patološko stanje. Predispozicija je dokazana za osteoporozu proučavanjem utjecaja različitih parova baza u Sp1 veznom mjestu na gustoću kostiju.^{108, 109} Dokazano je da pacijenti koji su heterozigoti (Ss) na Sp1 veznom mjestu imaju značajno manju gustoću kosti, što je još izraženije kod pacijenata koji su homozigoti(ss). Kod njih je uočena veća učestalost osteoporotičnih prijeloma kralješaka u odnosu na kontrolnu skupinu (54% prema 27%). Uzroci takve razlike u gustoći kosti dalje su istraživani te je upotrebom gel shift assay analiziran afinitet Sp1 faktora transkripcije u odnosu na različite baze prisutne na Sp1 veznom mjestu. Ustanovljen je i potvrđen značajno povećan afinitet za Sp1 vezno mjesto na COL1A1 genu koji kodira $\alpha 1$ lanac u slučaju kada je prisutna promjena G→T(s). Proučavanjem omjera $\alpha 1$ (I) lanaca u odnosu na $\alpha 2$ (I) lance kod homozigota (SS) i heterozigota (Ss) uočeno je da je u prvom slučaju omjer $\alpha 1$ (I) i $\alpha 2$ (I) lanaca blizu omjera 2:1, dok je u drugom slučaju primijećena povećana količina $\alpha 1$ (I) lanaca što je pratilo i promjene u omjerima mRNA involvirane u sintezu istih. Na temelju nađenih omjera pretpostavljeno je postojanje homotrimeričkih sastavljenih od tri $\alpha 1$ (I). Ispitivanjem svojstava kostiju uzetih od homozigotnih i heterozigotnih uzoraka nije nađena razlika u sadržaju vode niti krutosti, ali je potvrđena razlika u omjeru između mineralne i organske komponente kosti odnosno osteoporoza.

S obzirom na ove zanimljive rezultate velik broj autora je nastavio s proučavanjem polimorfizma i njegovoj ulozi u predispoziciji za ostala patološka stanja. Tako je grupa autora iz Južnoafričke Republike proučavala odnos polimorfizma Sp1 veznog mjesta i predispozicije za ozljedu prednjeg križnog ligamenta. Proučavajući skupine pacijenata koji su imali ozljedu prednje križne sveze i uspoređujući ih s kontrolnom skupinom došli su do spoznaje da je skupina sa TT(ss) genotipom statistički značajno manje zastupljena kod ozlijeđenih te je na temelju toga zaključeno da je ovaj genotip protektivan kod ozljede prednjeg križnog ligamenta.²⁰

1.7. Anatomija i biomehaničke karakteristike prednje ukrižene sveze

Prednja ukrižena sveza je intrakapsularni i ekstrasinovijalni ligament koji polazi s interkondilarne eminencije tibijalnog platoa i hvata se na stražnji i gornji dio medijalnog zida lateralnog kondila natkoljениčne kosti. Ligament je sastavljen od kolagenih vlakana povezanih u fibrile (20 μ m) koji onda čine veće strukturalne jedinice odnosno snopove (20 μ m do 400 μ m). Kolagen čini oko $\frac{3}{4}$ ukupnog suhog sastava ligamenta i većina kolagena (90%) je tipa I.

Osim njega manji dio je kolagen tipa III(oko 10%). Ostatak suhe tvari čine fibroblasti, elastin i proteoglikani. Sam ligament sadrži završetke živčanih stanica odnosno proprioceptivna tjelešca, a vaskularizacija predominantno ide od ogranaka arterije *geniculateae mediae* koja probija stražnju kapsulu zgloba blizu hvatišta na femuru te ostatak vaskularizacije ide preko retropatelarnog masnog tkiva od donje medijalne i lateralne arterije *geniculateae*. Schutte je identificirao tri vrste mehanoreceptora koji inerviraju ligament, a dolaze od ogranaka tibijalnog živca.¹¹⁰ Ljudi s denervacijom odnosno ozljedom prednje križne sveze imaju značajno viši prag za detekciju translacije u koljenu nego oni s intaktnim ligamentom.

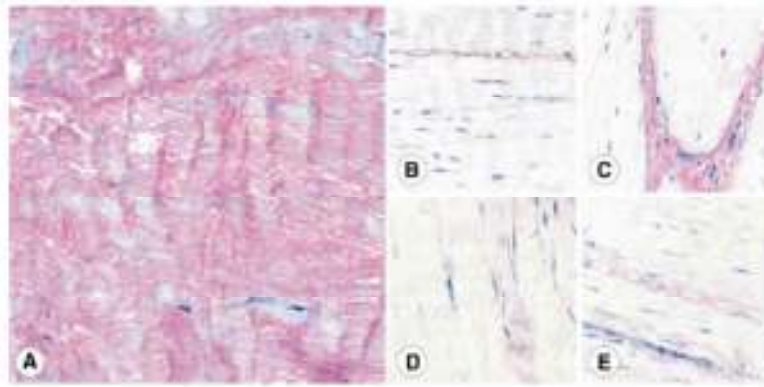
Femoralno hvatište je manje površinom od tibijalnog i u obliku je polumjeseca odnosno slijedi stražnju kurvaturu kondila oko 4 mm udaljeno od hrskavičnog ruba. Polazište je dimenzija od 16 - 24mm u većem i 11 mm u manjem promjeru. Ligament ide prema dolje, naprijed i medijalno i hvata se na ovalno hvatište na tibiji koje zauzima oko 1/3 površine tibije gledano u sagitalnom smjeru. Tibijalno hvatište je osim što je veće površinom i čvršće nego femoralno, a anatomska lokacija hvatišta s obzirom na okolne strukture je odmah medijalno od hvatišta prednjeg roga lateralnog meniska. Duljina ligamenta u AP smjeru je prosječno od 30 mm do 38 mm a u promjeru je oko 11 mm. Kao podatak se često u literaturi navodi kako 85% snage otpora prema prednjoj translaciji tibije u fleksiji od 90 stupnjeva pruža upravo prednja križna sveza.¹¹¹ Prednja križna sveza funkcionalno ne djeluje kao cjelina odnosno u ekstenziji vlakna ligamenta su paralelna, a u prijelazu prema fleksiji od 90 stupnjeva dolazi do rotacije vlakana tako da se mogu izdiferencirati dva, prema nekim autorima i tri snopića. Najčešća podjela uzimajući u obzir funkciju je na anteromedijalni i posterolateralni snopić. Neki autori govore i o trećem intermedijarnom snopiću.¹¹² Nomenklatura podjele snopa prednje križne sveze je na temelju odnosa vlakana kod hvatanja na tibiju na anteromedijalna koja se hvataju proksimalnije na femuru te su napetija prilikom fleksije i na posterolateralna vlakna koja se hvataju distalnije na femuru, a napetija su tijekom ekstenzije. Ove dvije karakteristike napetosti klinički se mogu upotrijebiti za ispitivanje integriteta pojedinih snopova. Odnosno test prednje ladice koji se izvodi u 90 stupnjeva fleksije i u neutralnoj rotaciji ispituje napetost anteromedijalnog snopa prednje križne sveze, a Lachmannov test koji se provodi u 30 stupnjeva fleksije ispituje u većoj mjeri posterolateralni snop prednje križne sveze. Međutim ovaj model raščlambe je pristran i gleda samo „ekstreme“ opsega pokreta dok je realna situacija sličnija situaciji gdje se selektivnim „regrutiranjem“ vlakana prednje križne sveze postiže translacijska stabilnost tibije kroz cijeli opseg pokreta koljena jer se ovisno o stupnju fleksije uvijek pojedini snopići dovoljno napnu da pruže dobru stabilnost koljena. Sve

ove činjenice o anatomiji prednjeg ukriženog ligamenta značajno su utjecale na evoluciju odnosno promjene u metodama rekonstrukcije vezano uz pozicioniranje tunala i vezano uz izbor graftova za rekonstrukciju.

Čvrstoća prednje križne sveze ispitana je u biomehaničkim pokusima na kadaverima i iznosi od 1725 ± 269 N prema Noyesu do 2160 ± 157 N prema Woo kod mlađih subjekata.^{39,}
113

1.8. Usporedba sastava tetiva semitendinozusa i gracilisa s prednjom ukriženom svezom

Tetive koje se koriste kao presadci u rekonstrukciji razlikuju se od nativnog ACL-a po čvrstoći i elasticitetu, ali i po fibrilarnoj strukturi i kolagenom sastavu te celularnosti. S obzirom na ispitivanje polimorfizma SP1 veznog mjesta COL1A1 gena kod tetiva gracilisa i semitendinozusa bitan moment je naravno i sastav odnosno količina kolagena tipa I koji izgrađuje tetive hamstringsa. U studiji provedena je opsežna analiza i usporedba nativnog ACL-a s tetivama semitendinozusa i gracilisa, kvadricepsa te patelarne tetive.¹¹⁴ Uočeno je da su tetive hamstringsa u odnosu na nativni ACL koji ga ima oko 30%, predominantno sastavljene od kolagena tipa I, posebno tetiva semitendinozusa gdje je njegova proporcija oko 75%. I dok kolagen tipa I prevladava u tetivama gracilisa i naročito semitendinozusa, kod izvornog ligamenta je kolagen tipa III taj koji prevladava u sastavu s udjelom od 55%. Kolagen tipa V u nativnom ACL-u je po udjelu otprilike poravnat s kolagenom tipa I, dok kod tetiva gracilisa odnosno semitendinozusa čini 20% odnosno 10% sastava. Bitno je napomenuti i da nativni ACL ima veću gustoću elastičnih vlakana u odnosu na tetivne presatke te veću gustoću fibroblasta ($35/\text{mm}^2$) u odnosu na presadak ($10/\text{mm}^2$). Sam prikazani sastav ima za posljedicu veću krutost grafta hamstringsa u odnosu na nativni ACL (776 N/m prema 242 N/m) odnosno veći prag podnošenja istezanja prije nego li pukne (4090 N prema 2160 N) za isti ispitivani promjer.¹¹⁵



Slika 9. Sadržaj elastičnih vlakana: a.ACL b.gracilis c. semitendinosus d.quadriceps e. patella (bojanje van Gieson)

(preuzeto iz: Hadjicostas PT, Soucacos PN, Koleganova N, Krohmer G, Berger I. Comparative and morphological analysis of commonly used autografts for anterior cruciate ligament reconstruction with the native ACL: an electron, microscopic and morphologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2008 Dec;16(12):1099-10)

1.9. Dijagnosticiranje rupture prednje ukrižene sveze

Dijagnoza ruptore prednje križne sveze postavlja se na temelju anamnestičkih podataka o ozljedi gdje se pacijenti obično jasno sjećaju inicijalnog traumatskog događaja koji je obično praćen padom. Pojedini pacijenti navode i jasno čujan zvuk pucanja nakon čega više nisu u mogućnosti nastaviti s aktivnošću. Nekoliko sati nakon inicijalne ozljede zglob otekne uz obično značajan izljev krvi odnosno hemartros.¹¹³ Već sam hemartros je indikativan za ozljedu prednje križne sveze pa su tako brojne studije provedene kod pacijenata s akutnim posttraumatskim hemartrosom stavile upravo ozljedu prednje križne sveze kao najčešći artroskopski nalaz. Kod kliničkog pregleda pacijenta potrebno je provesti kliničke testove stabilnosti odnosno Lachmanov test, test prednje ladice, pivot shift test, test varus i valgus stabilnosti u 0 i 30 stupnjeva te testove posterolateralnog instabiliteta. Najveću osjetljivost za postavljanje dijagnoze ruptore ima Lachmanov test do 93%, dok najveću specifičnost ima pivot shift test kod kojeg pak treba uzeti u obzir nižu osjetljivost u odnosu na Lachmann.¹¹⁶
¹¹⁷ Sumnja na rupturu potvrđuje se dodatnom dijagnostikom magnetskom rezonancom, a ujedno se i identificiraju potencijalne udružene ozljede. Ponekad već na RTG snimku prisustvo Segondove frakture, koja je indirektan znak ruptore, s velikom sigurnošću ukazuje na ozljedu.

Kao dijagnostička metoda izbora za vizualizacije prednje ukrižene sveze upotrebljava se magnetska rezonanca prilikom koje se na svim sekvencama ligament prikazuje intenzitetom sličnim mišiću. Sve tri ravnine obavezno se koriste za opis promjena na ligamentu, a najkorisnija je sagitalna ravnina koja se može koristiti u ravnini koja je kosa na sagitalnu ravninu koljena odnosno paralelna sa smjerom niti kako bi se još bolje vizualizirao ligament. Kod dijagnostike rupture se koristimo direktnim i indirektnim znakovima rupture. Prvi su znaci prekida kontinuiteta odnosno vizualizacija na MR sekvencama neanatomskog smjera niti ligamenta. Ostatak ligamenta može biti i zamijenjen vezivnim tkivom što je onda znak starijeg datuma ozljede. Sekundarni znaci korisni kod dijagnostike su izvijanje stražnje križne sveze, prednja translacija tibije te karakteristični uzorci koštanih kontuzija. Zlatnim standardom dijagnostike rupture dugo je smatrana artroskopija prilikom koje se može vizualizirati, ali i dinamički ispitati integritet niti prednje križne sveze. S obzirom na invazivnost te s obzirom na razvoj MRI aparata i povećanjem iskustva dijagnostičara, prednost treba svakako dati neinvazivnoj magnetskoj rezonanci s osjetljivošću 92% do 96% i specifičnošću od 89% to 99%.¹¹⁸



Slika 10. Segondova fraktura - indirektan radiološki znak ruptуре prednje ukrižene sveze

1.10. Suvremeni trendovi u rekonstrukciji prednje ukrižene sveze

Rekonstrukcija prednje križne sveze je sedmi najčešći kirurški zahvat koji se izvodi u SAD-u.⁹⁸

Rekonstruktivni zahvat kod pacijenata u našoj studiji izvršen je artroskopskom tehnikom, a uz upotrebu tetiva četverostrukog grafta semitendinozusa i gracilisa s ozlijeđene noge. Povijesno gledano, otkada je opisana metoda rekonstrukcije po Kenneth Jonesu, patelarni graft je bio metoda izbora za rekonstrukciju. Međutim zadnjih desetak godina ga je zamijenio četverostruki presadak gracilisa i simetendinozusa koji se pokazao u ispitivanjima znatno čvršćim s većim poprečnim presjekom i većom površinom za vaskularno urastanje i ligamentizaciju. U odnosu na patelarnu tetivu čvrstoća grafta je i do 140% veća te se izbjegava slabljenje ekstenzornog mehanizama i prednja koljenska bol koja nije rijetka kod upotrebe patelarnog grafta.¹¹⁹ Iako se u studijama koje su uspoređivale ova dva grafta implicirala razlika u povećanom laksitetu dokazanom i objektivnim testovima kao što su KT 1000 i KT 2000 artrometar, kasnija istraživanja su razliku pripisala neujednačenim metodama fiksacije graftova i neujednačenim rehabilitacijskim protokolima koji kad se uzmu u obzir anuliraju detektirane razlike.^{90,95}



Slika 11. KT 1000 artrometar služi za objektivnije mjerenje translacije potkoljenice u odnosu na natkoljenu

Tipovi fiksacije koji mogu biti korišteni u rekonstrukciji su supenzorna, aperturna fiksacija i kombinacije obje odnosno hibridna. Princip aperturne fiksacije je postavljanje

grafta u tunel gdje onda implantat svojim ulaskom ostvaruje kontakt grafta sa zidom tunela - najčešće se tu radi o vijku koji se postavlja paralelno s graftom slijedeći smjer tunela. Materijali od kojih su vijci napravljeni mogu biti različiti te su u početku bili predominantno titanski, dok su ih napretkom tehnologije ih sve više zamijenili bioresorptivni vijci (PLLA, poly-L-lactic acid, Biphasic Calcium Phosphate (BCP)). Jača fiksacija, kada se upotrebljavaju vijci, može se postići upotrebom vijka veće duljine i promjera. Suspenzorna fiksacija ostvaruje se na korteksu tunela posredstvom implantata na kojem onda „visi“ graft (Arthrex tight rope, Rigidfix, Endobutton). Kod upotrebe suspenzorne fiksacije primjećena je veća učestalost proširenja tunela što se pripisuje mikropokretima koji su mogući zbog izostanka čvrstog kontakta presatka sa zidom. Posljednjih godina u upotrebu je uvedena suspenzorna fiksacija s fleksibilnom petljom koja omogućuje dotezanje odnosno dodatno napinjanje grafta nakon što je on stavljen u anatomska poziciju.¹²⁰



Slika 12. Primjer suspenzorne fiksacije

Unutar svake od skupina postoji veći broj implantata ovisno o proizvođaču čija su mehanička svojstva različito deklarirana. Svi ti tipovi fiksacije su ispitani u laboratorijskim uvjetima te imaju deklariranu čvrstoću odnosno broj ciklusa uz određeno opterećenje koje u laboratorijskim uvjetima uzrokuje popuštanje koje je obično definirano kao „klizanje“ u mm.

Jedan od značajnih faktora koji doprinosi neuspjehu rekonstrukcije je neadekvatno urastanje presatka odnosno neadekvatan proces ligamentizacije što dovodi do biološke propasti presatka. To je uzrok neuspjeha prema nekim studijama i u do 27% slučajeva.⁹⁴ Provedene su brojne studije na animalnim modelima i studije humanih graftova te su na temelju njihovih rezultata opisani procesi remodeliranja odnosno „zarastanja“ grafta.^{121, 122}

Potrebno je razlikovati cijeljenje na spoju tetive i kosti koje se događa u koštanim tunelima od intraartikularnog procesa remodeliranja odnosno „ligamentizacije“. Svaki ovaj proces ima svoju dinamiku i specifične faze kada je najosjetljiviji i sklon propadanju.

1.11. Proces ligamentizacije grafta

Proces ligamentizacije grafta tetiva hamstringsa prolazi kroz tri karakteristične faze.

Prva odnosno rana faza cijeljenja je period do četiri tjedna nakon rekonstruktivnog zahvata. U centralnom dijelu grafta događaju se ograničene nekrotičke promjene te se smanjuje broj prisutnih stanica. U isto vrijeme s periferije grafta i iz sinovijalnih dijelova urastaju nove stanice. Još uvijek nema znakova revaskularizacije grafta, a struktura grafta u smislu održane strukture kolagena uglavnom je nepromijenjena te intraartikularni dio ima održanu čvrstoću pa je „locus minoris“ rezistencije u području tunela odnosno tijekom cijeljenja ovisi o snazi fiksacije.^{123, 124}

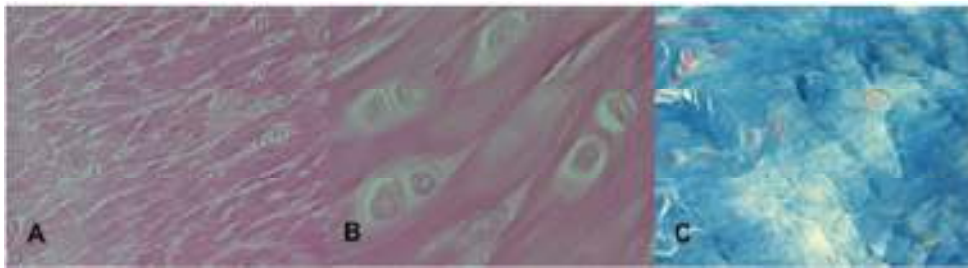


Slika 13. Promjene u tetivi 4 tjedna nakon operacije: a) područja nekroze, hipocelularnost b) aktivirani fibroblasti c) gubitak pravilne strukture vlakana

(preuzeto iz: Giordano M, Falciglia F, Poggiaroni A, Aulisa AG, Savignoni P, Guzzanti V. Histological changes of semitendinosus autograft after anterior cruciate ligament reconstruction in an immature rabbit model. *J Exp Orthop.* 2015 Dec;2(1):17)

Druga faza odnosi se na razdoblje od 4. do 12. tjedna nakon rekonstrukcije i nazvana je fazom hipercelularnosti. Nekroza grafta je uznapredovala i dolazi do oslobađanja faktora koji stimuliraju upalni odgovor odnosno migraciju stanica i hiperproliferaciju. U toj fazi počinje i revaskularizacija grafta koja traje do negdje 12. tjedna. Također se pojavljuju i miofibroblasti koji su važni za postizanje adekvatne napetosti grafta kada proces ligamentizacije završi. Najslabija mehanička svojstva graft ima od 6. do 8. tjedna kada je hipercelularnost najveća; kolagena struktura presatka je poremećena odnosno zbog izražene sinteze kolagena dolazi do pomaka od većih fibrila k manjima. Povećana sinteza kolagena

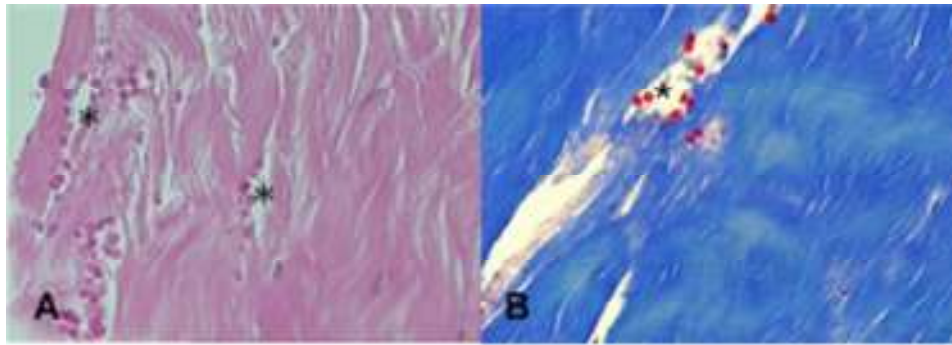
tipa III u odnosu na kolagen tipa I u toj fazi također značajnije utječe na mehaničke karakteristike grafta. Kolagen tipa III značajno je zastupljen u graftu i do dvije godine nakon rekonstrukcije. U prilog tome je i da ni jedna *in vivo* studija i do dvije godine nakon rekonstrukcije nije potvrdila mehanička svojstva presatka koja bi odgovarala onima nativnog ligamenta. Opterećenje grafta tijekom faze hipercelularnosti je važno kako bi se održala adekvatna dinamika cijeljenja, ali uz potreban oprez kako bi se izbjeglo preekscitativno istegnuće koje bi dovelo do labavosti koja se više neće moći popraviti.¹²⁵



Slika 14. Promjene u tetivi osam tjedana nakon operacije: a) hipercelularnost fibroblasta b) aktivirani fibroblasti s dvostrukim jezgrama c) reorganizacija strukture kolagenih vlakana

(preuzeto iz: Giordano M, Falciglia F, Poggiaroni A, Aulisa AG, Savignoni P, Guzzanti V. Histological changes of semitendinosus autograft after anterior cruciate ligament reconstruction in an immature rabbit model. J Exp Orthop. 2015 Dec;2(1):17)

Treća i zadnja faza cijeljenja grafta odnosi se na fazu koja počinje nakon 12 tjedana od operacije. Opisane su razlike u procesu ligamentizacije kod ljudi u odnosu na modele proučavane u životinjama. Karakteristika zadnje faze je da pada broj stanica u presatku, da raste broj kolagena te se djelomično restaurira struktura kolagenih vlakana koja nalikuje onoj nativnog ligamenta. Procesi vaskularizacije završavaju s 12 mjeseci u smislu ravnomjernog rasporeda žila kroz graft.^{126, 127} Također je primijećeno da ni u jednom animalnom modelu snaga grafta nije prešla 50% - 60% snage izvornog ligamenta.



Slika 15. Promjene u tetivi 12 tjedana nakon operacije: a) periferna i centralna revaskularizacija grafta b) djelomična restauracija strukture kolagenskih vlakana

preuzeto iz: Giordano M, Falciglia F, Poggiaroni A, Aulisa AG, Savignoni P, Guzzanti V. Histological changes of semitendinosus autograft after anterior cruciate ligament reconstruction in an immature rabbit model. *J Exp Orthop.* 2015 Dec;2(1):17

Značajan doprinos razumijevanju odnosno usporedbi procesa intraartikularnog cijeljenja kod ljudi u odnosu na animalne modele su dali radovi u kojima su proučavani bioplati tetivnih presadaka u različitim postoperativnim fazama. Biološka remodelacija kod ljudi uglavnom završava prvu godinu nakon operativnog zahvata iako remodelacija bude prisutna i do druge godine nakon operacije. U odnosu na animalni model manji je gubitak organizirane strukture kolagenih fibrila, neovaskularizacija je manje izražena s predominantnom opskrbom grafta preko okolnog sinovijalnog pokrova. U studijama je potvrđena i činjenica da je cijeljenje grafta potaknuto „opterećenjem“ što ponekad može biti i dvosjekli mač pa preopterećenje dovodi do neuspjeha.^{125, 128}

Intratunelarno cijeljenje grafta odnosno cijeljenje na spoju tetive i kosti novostvorenog koštanog tunela vrlo je bitno za uspjeh rekonstrukcije. Način na koji se to događa ekstenzivno je proučen na životinjskim modelima i ekstrapoliran na ljude. U ranoj postoperativnoj fazi stvara se granulacijsko tkivo koje obavija intratunelarno pozicioniran graft te se nakon drugog tjedna postupno uklanja makrofazima i ujedno se povećava kolonizacija fibroblastima koji produciraju gušće vezivno tkivo odnosno brojna kolagena vlakna.

Nakon 4. tjedna dolazi do organizacije kolagenih vlakana i njihovog urastanja u novostvoreni plašt koštanog tkiva. Povezivanje sloja stvorenog veziva i kosti i njihova integracija dokazani su proučavanjem pod elektronskim mikroskopom.¹¹⁴ Paralelno s integracijom dva „omotača“ progresivno raste i otpornost grafta na „izvlačenje“ s

najznačajnijim porastom do četvrtog tjedna, a onda polakše sve do dvanaestog tjedna postoperativno kada je uočeno da na testovima izvlačenja „locus minoris“ prestaje biti spoj tetive i kosti. U skladu s tim saznanjima donesene su i preporuke o dinamici povećanja opterećenja na graft. U recentnijim radovima koji su proučavali aperturnu fiksaciju grafta gdje se ostvaruje čvrsti pritisak grafta na koštane stijenke opisane su različitosti u odnosu na suspenzornu fiksaciju grafta u načinu urastanja grafta. Weiler sa suradnicima u svom radu opisuje cijeljenje u direktnom kontaktu za razliku od cijeljenja remodelacijom fibrozne ovojnice. Primarno urastanje ligamenta u kost kao posljedica anatomske „press fit“ fiksacije u njihovoj se studiji manifestiralo koštanom integracijom tetive do 12. tjedna i potpunim nestankom fibrozne međuzone na mjestima gdje je bila djelomično prisutna također do 12. tjedna.¹¹⁹

1.12. Uzroci rupture grafta nakon operacije

Uzroci primarne rupture prednje ukrižene sveze dobro su proučeni i većim dijelom opisani ranije. Jednako tako s obzirom na to da je operativna rekonstrukcija postala sve rašireniji zahvat, značajan broj autora identificirao je sve veći apsolutni broj pacijenata s rerupturama grafta. Provedene studije o uzrocima reruptura s druge strane tek zadnjih godina hvataju prključak i u količini i kvaliteti s onima koje su poučavale uzroke primarnih ruptura. Adekvatno razumijevanje faktora rizika za rerupturu je prvi korak u poboljšanju rezultata rekonstrukcija. Ako su ti faktori podložni utjecaju, onda bi svakako bilo poželjno da se u rehabilitacijske i operativne protokole uključe spoznaje dobivene njihovim proučavanjem. Ako s druge strane na njih nije moguće utjecati, i sama informacija o povećanom riziku za neuspjeh bila bi korisna za pacijenta koji se priprema za ekstenzivan zahvat s dugotrajnom postoperativnom rehabilitacijom.

Dobro poznat i logičan uzrok rerupture grafta kod operiranih je nivo aktivnosti kojem se pacijenti vraćaju nakon rekonstruktivnog zahvata. Oni koji se vraćaju u najviši nivo aktivnosti odnosno natjecateljski sport na međunarodnoj razini imaju veći rizik za rerupturu grafta i do 10 puta, odnosno 12,5%.^{129,130} Dobro je dokumentirana i statistički značajna razlika za rerupturu u odnosu na vrijeme povratka visokoj razini sporta nakon rekonstrukcije. Pacijenti koji se ranije vraćaju u pun pogon imaju značajno veću sklonost ponovljenoj ozljedi što se najviše pripisuje preranom opterećenju nedovoljno zacijeljenog presatka.

Spol je detaljno dokumentiran kao značajan faktor za primarnu ozljedu, dok su dokazi za povećanu sklonost prema rupturama grafta dvojbeni. Pojedini su autori prikazali veću učestalost ozljeda grafta kod muškaraca, ali te studije uglavnom nisu ujednačile nivo postoperativne aktivnosti tako da se uzrok tome najvjerojatnije krije upravo u višem stupnju aktivnosti kod muškaraca. Čini se da žene nakon rekonstrukcije imaju jednak rizik za ponovnu ozljedu kao i muškarci što se onda objašnjava ili činjenicom da je graft koji se upotrebljava za rekonstrukciju čvršći od nativnog grafta ili pojedine studije to pripisuju činjenici da se žene obično ne vraćaju na nivo aktivnosti prije ozljede.¹³¹

Dob je u brojnim studijama identificirana kao potencijalan faktor rizika za ponovnu ozljedu. Pacijenti u drugom desetljeću života odnosno mlađi od 18 godina imaju najveći rizik za rerupturu. Svakih 10 godina smanjenja starosti nosi sa sobom 2,3 puta povećan rizik rerupture.⁸² Uzrok toga je nejasan odnosno postoji mogućnost da je nivo aktivnosti koji je kod mlađih veći uzrok ovakve razlike te da dob nije neovisan faktor već je usko vezana uz nivo aktivnosti. Osim potencijalnog utjecaja nivoa aktivnosti i sam proces starenja mogao bi utjecati na mehanička svojstva ligamenata i tetiva.¹³²⁻¹³⁴

Neuromuskularni faktori su potvrđeni kao neovisan faktor rizika za rerupturu, ali i za inicijalnu ozljedu ACL-a, odnosno doprinose u jednakoj mjeri u oba slučaja. Analizom doskoka kod velike skupine ozljeđenika i kontrola identificirani su karakteristični uzorci u kretanju koji izlažu nativni ligament i presadak velikom naprezanju te samim time većem riziku za ozljedu.¹³⁵ Prilagođeni rehabilitacijski protokoli bi u značajnoj mjeri mogli smanjiti rizik za ponovnu ozljedu, ali i za inicijalnu ozljedu.

Rekonstruktivni zahvat je podložan brojnim faktorima koji mogu dovesti do propadanja grafta i mogu se desiti u bilo kojoj postoperativnoj fazi. Svaki postoperativni segment ima svoju najslabiju kariku koja može biti uzrok neuspjeha. Tako s obzirom na vrijeme prošlo od rekonstrukcije možemo identificirati rani i kasni period rerupture presatka. Rerupture se također mogu podijeliti i na traumatske i atraumatske s obzirom na postojanje potencijalnog događaja koji je doveo do ponovne ozljede.

U ranom postoperativnom razdoblju kao česti uzrok neuspjeha treba izdvojiti neadekvatnu mehaničku fiksaciju grafta koja čini 3 - 7% svih propasti grafta u razdoblju prvih 12 tjedana dok intratunelarna integracija presatka još nije adekvatne čvrstoće.^{136, 137} Koštani tunel u tibiji je češće mjesto „izvlačenja“ fiksacije jer je kost mekša te je prema

studijama potrebna duplo manja sila da se fiksacija izvuče.¹³⁸ Suspenzorna fiksacija na femuru može također biti neadekvatna uslijed pucanja korteksa ili neadekvatnog postavljanja i primjerice njezinog zaostatka u kanalu.

Postoperativni septični artritis koji je relativno rijetka, ali najgora moguća komplikacija rekonstruktivnog zahvata također može dovesti do propasti grafta. S obzirom na vrijeme pojave najčešći je akutni u prva dva tjedna i subakutni u prva dva mjeseca, a uzrokovan je kontaminacijom operativnog polja vanjskim patogenima. Ako je rano uočen te adekvatno liječen, graft se može zadržati, međutim u uznapredovalijim oblicima potrebno je odstranjenje fiksacije i grafta.¹³⁹

Aseptična nekroza grafta ima za posljedicu neadekvatno urastanje grafta u koštane tunele i neadekvatno završen proces ligamentizacije. Uzrok je propasti rekonstrukcije i u do 27% slučajeva.⁹⁴ Uzroci su, pretpostavlja se, neadekvatna mehanička fiksacija koja onemogućava urastanje te imunološki odgovor domaćina koji je češći u slučajevima rekonstrukcije primjenom alografta. Kod primjene autografta aseptička nekroza je rijetka prema nekima studijama i do tri puta.¹⁴⁰

Krivo pozicioniranje tunela kod rekonstrukcije je najopširnije istraženo područje koje najviše doprinosi ukupnom broju neuspješnih rekonstrukcija (24% do čak 80%).¹⁴¹ Najčešće loše pozicionirani tunel je onaj u femuru što je vezano i uz početke rekonstrukcija uz upotrebu transtibijalne tehnike pristupa na femur koja je diktirala postavljanje grafta okomitije u interkondilarnu udubinu tako da su graftovi bili vertikalniji, neanatomskiji, skloniji srazu s okolnim strukturama te se postizala lošija rotatorna stabilnost. Upotrebom anteromedijalne tehnike pozicija femoralnog grafta postala je anatomska te se dobila bolja rotatorna stabilnost i smanjila učestalost sraza s okolnim strukturama. Ispitivanje na kadaverima i upotreba kompjuterskih simulacija pokazali su značaj sraza, odnosno potrebu anatomske pozicije kanala.¹⁴² Tibijalni tunel usmjeren prema naprijed iako poboljšava anteroposteriornu i rotatornu stabilnost češće je izložen srazu s krovom interkondilarne udubine. Stražnje pozicioniran tunel kompromitira rotatornu stabilnost i podložan je srazu sa stražnjom ukriženom svezom, dok su medijalno ili lateralno pozicionirani tuneli podložni srazu s medijalnim ili lateralnim kondilom femura. Centar otiska na tibiji i na femuru je predložen kao mjesto koje će minimalizirati impingement i samim time gubitak grafta. S obzirom na varijabilnost „otisaka“ preporučena je dodatna intraoperativna orijentacija po koštanim anatomskim referencama.^{143, 144}

Udružene ozljede koljenskih struktura koje uzrokuju povećano naprezanje rekonstruiranog grafta predstavljaju značajan problem i imaju veliki utjecaj na ponovljene ruptуре graftova.¹⁴⁵ Tako primjerice koljeno s učinjenom medijalnom menisectomyom podnosi minimalno 50% veća opterećenja na prednji križni ligament.⁴⁸ Vrlo česte udružene ozljede su i ozljeda posterolateralnog kuta te medijalnog kolateralnog ligamenta koje uzrokuju povećana naprezanja na presadak kod rekonstruiranog koljena. Ozljeda medijalnog kolateralnog ligamenta dodatno povećava opterećenje na graft, naročito u fleksijama većim od 60 stupnjeva. S druge strane intaktni lateralni menisk je značajniji za rotatornu stabilizaciju koljena. Ozljeda lateralnog kolateralnog ligamenta značajno povećava opterećenje na presadak u fleksiji 0, 30 i 60 stupnjeva te bi se trebala preoperativno ispravno dijagnosticirati kako bi se mogla učiniti dodatna adekvatna stabilizacija i time izbjegla reruptura grafta. Ozljeda poplitealnog kompleksa prema studijama značajnije ne doprinosi opterećenju na graft.¹⁴⁶

Ponovljeni traumatski događaj nakon što je prošao period rehabilitacije u trajanju od otprilike godinu dana je najčešći kasni uzrok ruptуре presatka. S obzirom na proteklo vrijeme graft je prošao kroz proces urastanja i ligamentizacije i pacijent se vratio u normalne svakodnevne aktivnosti tako da se obično sjeća traumatskog događaja koji je kliničkom prezentacijom sličan onome kod inicijalne ozljede.

Gore izloženi faktori svaki za sebe u različitoj mjeri mogu uzrokovati propast grafta. Međutim potrebno je napomenuti da se ipak najčešće radi o utjecaju više faktora čiji preklapljeni utjecaj na kraju dovede do ponovne ozljede, kao npr. sraz grafta zbog loše pozicije tunela i manji traumatski događaj dovedu do ponovnog puknuća.

1.13. Polimorfizam Sp1 veznog mjesta COL1A1 i ozljeda prednje križne sveze - dosadašnje spoznaje

U pojedinim radovima TT(ss) genotip se pokazao kao manje zastupljen u populaciji pacijenata s rupturom prednje križne sveze i u populaciji pacijenta s rupturom rotatorne manšete u odnosu na kontrolnu populaciju (4,6% prema 0%) te se samim time nametnuo zaključak kako on djeluje protektivno na ozljeđivanje.²⁰ Slične je zaključke izvukla i studija obavljena na populaciji u Švedskoj.²⁰

Studija iz 2007. godine koja je proučavala utjecaj polimorfizma Sp1 veznog mjesta COL1A1 gena na ozljedu Ahilove tetive nije uspjela dokazati nikakvu razliku.¹⁴⁷ Ista grupa

autora s druge strane je u radu objavljenom godinu dana ranije dokazala utjecaj polimorfizma COL5A1 BstUI RFLP na tendionopatiju odnosno rupturu Ahilove tetive. Godine 2009. objavljeni su rezultati više studija provedenih na južnoafričkoj populaciji gdje je implicirana protektivnost TT genotipa za ozljede prednje križne sveze, luksacije ramena i rupturu Ahilove tetive.¹⁴⁸ Svi ti nalazi su u kontradiktornosti s izvornim radovima o polimorfizmu Sp1 veznog mjesta gdje je pojava promjene baze G u T djelovala na smanjenje koštane mase, veću sklonost k frakturama odnosno izraženiju osteoporozu. Mehanizam kojim se to odvija je objašnjen na način da kod promjene G u T raste afinitet veznog mjesta za promotor transkripcije zbog čega se onda sintetizira povećana količina alfa 1 lanaca te se formira veći broj homotrimerera u odnosu na heterotrimerere u kojima je omjer alfa 1 i alfa 2 lanaca 2:1. Na taj se način narušava čvrstoća vezivnog tkiva što onda može imati za posljedicu češću pojavu patoloških stanja negoli kod pacijenata koji imaju „normalan“ sastav i sintezu kolagena. Grupa autora je dokazala, primjerice, da je povećana učestalost pojave inguinalne kile kod pacijenata s GT(Ss) genotipom u donosu na kontrole.¹⁴⁹ Daljnje studije povezale su polimorfizam Sp1 veznog mjesta sa stres inkontinencijom urina gdje je implicirana povećana sklonost razvoju bolesti kod GT odnosno TT genotipa.¹⁵⁰ Gore navedene dosadašnje spoznaje su u kontradiktornosti jer kod jednih TT genotip djeluje protektivno, dok je kod drugih pojava GT odnosno TT genotipa povezana uz veću učestalost patologije. To može biti posljedica multifaktorijalnosti u etiologiji proučavane patologije tako da je previđen neki od faktora koji puno značajnije djeluje na patologiju. Nadalje, kako je već pokazano u izlaganju, različite strukture u tijelu imaju različit sastav i različite omjere kolagena koji ih formiraju. Kod nekih struktura povećana čvrstoća može biti ono što će u konačnici smanjiti postotak ozljeđivanja, dok će kod drugih struktura povećana čvrstoća smanjiti elasticitet te dovesti do suprotnog efekta. U situaciji upotrebe tetiva hamstringsa za rekonstrukciju jedan od osnovnih zahtjeva je čvrstoća tetive kako bi zahvat prošao adekvatno. Postotak kolagena tipa I, u tetivi naročito semitendinozusa, kako je već pokazano izrazito je visok. Samim time gledano na molekularnoj razini povišen nivo alfa 1 lanaca uzrokovan povećanom sintezom zbog promjene afiniteta Sp1 veznog mjesta koja je uzrokovana promjenom G u T može zbog pojave homotrimerera značajno narušiti čvrstoću presatka i samim time uzrokovati veću učestalost rerupture. Poljska studija skijaša s rupturiranim ACL-om je potvrdila protektivnost pojave G na način da smanjuje učestalost ozljede. To je u suprotnosti s dosadašnjim nalazima grupe autora iz JAR-a i Švedske gdje TT genotip djeluje protektivno.

1.13.1. Utjecaj polimorfizma gena na mehanička svojstva kolagena tipa I

Proučavanje sastava kolagena tipa I odnosno razlike u svojstvima homotrimerera i heterotrimerera nudi odgovore na molekularnoj razini o uzrocima različite sklonosti prema rupturama ligamenata ili pak većoj sklonosti ozljedama tetiva.¹⁵¹ Ispitivanje fibrila koje oblikuju homotrimeri alfa 1 lanaca ukazuje na manji promjer tih fibrila odnosno na teže formiranje fibrila u odnosu na heterotrimerere. Homotrimeri pokazuje slabije međusobne veze i iako su morfološki slični heterotrimerima pokazuju manju tenzilnu snagu i manju gustoću fibrila unutar vlakna.¹⁵² Većina spoznaja o homotrimerima potiče od proučavanja vlakana koja su isključivo sastavljena od homotrimerera. Izučavanjem polimorfizma Sp1 veznog mjesta u osteoporozu zaključeno je da kod ss genotipa oko 15% ukupnog sastava otpada na homotrimerere. Na koji način interakcija odnosno različiti omjeri homo- i heterotrimerera utječu na mehanička svojstva kompleksa u cjelini još je nedovoljno istraženo, kao i koliki mora biti relativni udio da bi se učinak mogao ispoljiti. U studiji Hana i suradnika ispitana su svojstva miješane strukture sastavljene od homo i heterotrimerera.¹⁵¹ Fibrili sastavljeni od homotrimerera pokazali su veću krutost, odnosno manju elastičnost te nisu bili podložni savijanju, dok su s druge strane heterotrimeri jedini pokazivali mogućnost savijanja u ispitivanjima. Upravo ta povećana čvrstoća homotrimerera je način na koji je objašnjena veća sklonost prema rupturi u odnosu na vezivno tkivo koje je sastavljeno od heterotrimerera. Čak i manja količina homotrimerera prisutna u kolagenu tipa I narušit će ravnomjeran raspored koji heterotrimeri imaju u vlaknima kolagena, odnosno prouzročit će segregaciju prilikom formacije vlakana zbog različite topljivosti koju ove dvije varijante pokazuju. Još jedna bitna karakteristika homotrimerera je i činjenica da su slabije podložni djelovanju kolagenaza te samim time poremećaj u omjerima kao posljedica polimorfizma može nositi i sklonost prema patologiji uzrokovanoj nakupljanjem – pojava glomerularne skleroze i zatajenja bubrega te nakupljanje koštanih cista koje otežavaju remodeliranje kosti i samim time povećavaju sklonost prema osteoporozu.^{153, 154} Povećana sinteza alfa 1 lanaca odnosno potencijalna formacija homotrimerera alfa 1 u kolagenu tipa I dovedena je u vezu s pojavom smrznutog ramena, odnosno pojavom Dupuytrenove kontrakture.

1.13.2. Što je točno polimorfizam gena

Polimorfizmi su varijacije na specifičnim mjestima u DNA lancu odnosno sam termin označava postojanje dviju ili više varijanti genetske sekvence u različitim jedinki iste vrste. Većina polimorfizama (90%) kod ljudi se odnosi na SNP odnosno polimorfizme jednog nukleotida. Prema nekima učestalost u populaciji mora biti iznad 1% da bi se promjena sekvence označila kao polimorfizam a ne mutacija (prema nekima i do 5%). Otprilike 2/3 SNP u ljudi nalazi se u nekodirajućim dijelovima DNA. Polimorfizmi, čak i kad su prisutni u kodirajućim dijelovima, ne dovode nužno do fenotipskih promjena odnosno njihov učinak može biti tih jer ne uzrokuju promjenu aminokiseline u krajnjem produktu kojeg kodiraju. Krajnji produkt proteina koji je kodiran genom zahvaćenim polimorfizmom, a ukoliko promjena nije tiha, može biti protein koji se razlikuje od izvornog po tome da ima drugačiju odnosno promijenjenu funkciju (*missense*). Većina polimorfizama nema nikakvog utjecaja na fenotipske karakteristike, no neki mogu uzrokovati klinički manifestne bolesti kao npr. srpastu anemiju ili se mogu manifestirati kao povećana sklonost osteoporozi i osteoporotičnim frakturama.

Evolucijske sile koje su izvori polimorfizma gena odnosno varijabilnosti u populaciji su mutacija, tok gena odnosno migracija, genetički drift (*founder* i *inbreeding* efekt), prirodna selekcija.

Mutacije u reproduktivnim stanicama značajne su za pojavu varijabilnosti odnosno polimorfizama jednog nukleotida (SNP). One se javljaju kao točkaste mutacije, insercije ili delecije. Do promjena u polimorfizmu gena dovodi i tok gena odnosno prijenos iz različitih populacija kretanjem jedinki iz jedne populacije u drugu.

Tijekom povijesti čovječanstva kada su putovanja bila ograničena odnosno parenje je bilo ograničeno na jedinke iz bliske okoline širenje varijabilnosti bilo je ograničeno, dok je u moderno vrijeme tok gena izraženiji kao izvor varijabilnosti.

Genetički drift kao izvor varijabilnosti odnosi se na slučajne varijacije gena odnosno promjene frekvencije alela unutar populacije. Mutacija koja se jednom pojavi ne mora se više vratiti ili se može fiksirati u populaciji. Izdvojene populacije koje su zbog izdvojenosti usmjerene na reprodukciju unutar sebe najbolji su primjer kako može porasti relativna frekvencija nekog alela iako u izvornoj populaciji njezina frekvencija bude zanemariva.

Prirodna selekcija je također vrlo bitna evolucijska snaga. Neke varijacije mogu dovesti do teških bolesti i na taj način ograničiti reprodukciju tako da se u prirodi dalje ne prenose. S druge strane varijacija koja čini jedinku „boljom“ lakše se fiksira u populaciji. Prirodna selekcija u svom djelovanju se odnosi na fenotip, a ne direktno na genotip jer kroz fenotipske karakteristike daje prednosti prilagođenijim jedinkama.

Potrebno je puno generacija da se nova ljudska mutacija etablira kao varijacija odnosno da joj frekvencija u populaciji poraste iznad 1% te je s obzirom na ranije izneseno logično da se demografske populacije međusobno razlikuju po varijabilnosti. Genska varijabilnost u ljudskoj rasi je globalno gledano prilično konstantna odnosno bez obzira na opisane evolucijske sile promjene varijabilnosti se odvijaju izrazito sporo.

2. HIPOTEZA

Hipoteza ovog rada je da postoji povezanost rupture presatka sa specifičnim genotipom na Sp1 veznom mjestu COL1A1 gena, odnosno da postoji predispozicija za ozljedu tetiva semitendinozusa i gracilisa kod pojedinaca sa specifičnim genotipom na Sp1 veznom mjestu COL1A1 gena.

3. CILJEVI RADA

Definirati dvije skupine pacijenata:

1. skupina: operirani, rehabilitirani pacijenti koji su imali intrasupstancijsku rupturu tetivnog presatka.

2. skupina: operirani, rehabilitirani pacijenti koji nisu imali rupturu tetivnog presatka

Molekularnom analizom (RFLP-PCR) utvrditi oblike genotipa za polimorfizam Sp1 gena COL1A1 u skupini pacijenata sa i bez ruptуре presatka. Dobivene rezultate statistički obraditi i utvrditi postoji li statistički značajna razlika između dviju skupina.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Odabir pacijenata

Istraživanje je provedeno na pacijentima operiranim u Zavodu za ortopediju KB Sveti Duh u razdoblju od lipnja 2007. do lipnja 2012. godine. Retrospektivno su iz operacijskih protokola izdvojeni pacijenti koji su operirani zbog rerupture prednje križne sveze, odnosno rupture grafta tetiva semitendinosusa i gracilisa. Od operiranih pacijenata izdvojili smo one koji su u postoperativnom periodu odnosno nakon završene rehabilitacije imali rupturu tetivnih graftova. Prilikom toga su isključeni oni koji su zbog pretpostavljenih tehničkih razloga operacije ili neadekvatno provedene rehabilitacije imali rerupturu te je izdvojena skupina u kojoj su svi prošli rekonstrukciju na jednak način upotrebom iste operative tehnike te operiranih od strane istog operatera prof. dr. sc. Saše Jankovića.

Vremenski odmak od operativnog zahvata morao je biti minimalno godinu dana kako bi pacijent bio uključen u studiju. Pacijenti kod kojih je rađena rekonstrukcija s dva presatka (tzv. „*double bundle*“ tehnikom) nisu uključeni u istraživanje. U studiju su uključeni samo oni pacijenti koji su nakon zahvata uspješno rehabilitirani te su se vratili prijašnjoj razini sportskih aktivnosti.

Preliminarnim pregledom operacijskih protokola i povijesti bolesti pacijenata identificirano je 30 potencijalnih ispitanika sa rupturama grafta. Prilikom stupanja u kontakt s pacijentima njih četvero nije željelo sudjelovati u istraživanju tako da je formirana skupina od 26 ispitanika. Svakom od ispitanika je iz kontrolne skupine operiranih, rehabilitiranih i aktivnih pacijenata, kojih je tijekom pet godina bilo oko 300, pridružen par koji mu je bio sličan po godinama, spolu, BMI-u, te po razini fizičke aktivnosti. S obzirom na vrstu fizičke aktivnosti, odnosno sporta kojim se bave, ispitanici su dodatno grupirani u skupine kontaktnih nasuprot nekontaktnim sportovima, u skupinu natjecateljskog sporta nasuprot rekreativnom te u skupinu nogometaša prema svim ostalim vrstama sportova. Tako se i kontrolna skupina također sastojala od 26 ispitanika.

4.2. Prikupljanje uzorka

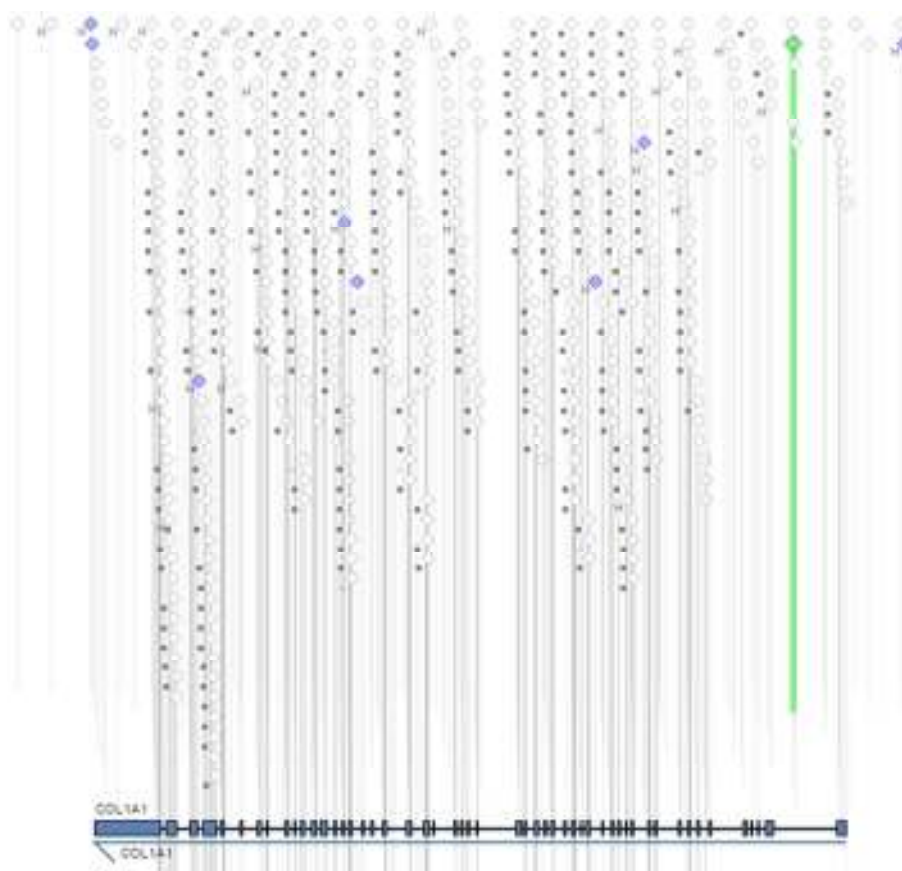
Nakon što su detaljno upućeni u ciljeve i metode istraživanja putem razgovora i informiranog pristanka, pristupilo se vađenju 4,5 mL venske krvi, venepunkcijom iz vene podlaktice u epruvetu s EDTA. Uzorci su pohranjeni u hladnjak na 4 °C dok se nije pristupilo

njihovoj obradi. Istraživanje polimorfizma Sp1 veznog mjesta provedeno je pod vodstvom prof. dr. sc. Rajka Kušeca u Odjelu molekularne dijagnostike i genetike Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava. Iz uzorka periferne krvi ispitanika izolirana je genomna DNA (reagenskim setom prema uputama proizvođača, QIAamp DNA blood mini kit).

4.3. DNA analiza

Po izolaciji spektrofotometrijski je izmjerena koncentracija i čistoća dobivene DNA te je 50 ng uzeto za PCR reakciju A/C polimorfizma u lokusu rs1800012 gena COL1A1. Za PCR je korišten TaqMan assay kat. br. C_7477170 tvrtke Thermofisher, a reakcija je izvođena u *real-time* PCR uređaju Applied Biosystems 7300 . Sekvenca polimorfnog mjesta chr17;48277749=GAGGTCCAGCCCTCATCCCGCCC[A/C]CATTCCTGGGCAGGTGG GGTGGCG

SNP rs1800012__ A/C



Slika 16. Mapa položaja testiranog polimorfizma u COL1A1 genu

Nakon provedene genotipizacije jedan uzorak skupine ispitanika nije bio podoban za obradu te je konačan broj ispitanika te skupine sveden na $N = 25$.

4.4. Statistička analiza

Za statističku analizu korišten je programski paket MedCalc (MedCalc Statistical Software version 14, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2015). Tablice frekvencija za kategoričke varijable (genotip, spol, sportska aktivnost) i osnovni statistički parametri (medijan, minimalne i maksimalne vrijednosti kao raspon mjerenja) za kontinuirane varijable (dob, visina, indeks mase) izračunani su odvojeno za kontrolnu skupinu i skupinu bolesnika s rerrupturom. Podaci su uspoređeni χ^2 -testom i Mann-Whiteyevim neparametrijskim U-testom. Rezultati višestruke logističke regresije (pojavnost homozigota kao binarna varijabla) izraženi su regresijskim (beta) koeficijentima i njihovim standardnim pogrješkama (SE, engl. *standard error*) koji pokazuju pojedinačni doprinos svake prediktorske varijable ukupnoj korelaciji. Statistička značajnost postavljena je na $\alpha = 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Temeljne osobine ispitanika u istraživanju i pripadnost skupini

Temeljni podatci o bolesnicima u ovom istraživanju za kontrolnu skupinu i skupinu bolesnika s rerupturom prikazani su u Tablici 1. Podaci pokazuju da prevladavaju muškarci, i tako u obje skupine (73 % muškaraca u kontrolnoj skupini i 92 % u skupini s rupturom), bez statistički značajne razlike među uspoređenim skupinama ($P = 0,160$). Pošto testiranjem raspodjele po spolu nije pronađena statistički značajna razlika između dviju skupina, sve ostale analize (usporedbe varijabla dobi, mase, visine i BMI) provedene su u odnosu na pripadnost kontrolnoj skupini i skupini s rerupturom, nezavisno od spola ispitanika.

Usporedbe mase (kg), visina (cm) i indeksa tjelesne mase (kg/m^2) nisu pokazali statistički značajnu razliku (za sve $p < 0,05$, Tabl. 1) između ispitanika kontrolne skupine i skupine s rupturom, dok je testiranjem varijable dobi (god.) između kontrolne i istraživačke skupine prikazana statistički značajna razlika ($P = 0,015$); ispitanici s rupturom su dobi 26 (19 – 45) godina (medijan, raspon; Tabl. 1), dok su kontrolni ispitanici dobi 30 (20 – 49) god. Time se pokazalo da je ozljeda češća u nešto mlađoj populaciji.

Tablica 1. Osobine ispitanika u istraživanju.

Varijabla		Kontrolna skupina N = 26	Ispitanici s rupturom N = 25	Statistika	Ukupno
Spol, N (%)	muškarci	19 (73 %)	23 (92 %)	$\chi^2 = 1,97$ SS = 1 P = 0,160	42 (75 %)
	žene	7 (27 %)	2 (8 %)		9 (15 %)
Dob (godine)	medijan (raspon)	30 (20 – 49)	26 (19 – 45)	z = 2,44 P = 0,015	28 (19 – 49)
Visina (cm)	medijan (raspon)	176 (160 - 191)	181 (168 - 193)	z = 1,89 P = 0,059	178 (160 – 193)
Masa (kg)	medijan (raspon)	75 (59 – 104)	78 (60 – 95)	z = 0,66 P = 509	78 (59 – 104)
Indeks tjelesne mase (BMI)	medijan (raspon)	23,8 (19,8 – 30,4)	23,5 (20,5 – 27,7)	z = 0,21 P = 0,836	23,5 (19,8 – 30,4)

Kratice: χ^2 , z – specifične vrijednosti statističkih testova, SS – stupnjevi slobode, N – apsolutni broj ispitanika, P – izračunata razina značajnosti učestalosti, BMI – indeks tjelesne mase (od engl. *body mass index*).

5.2. Pojavnost genotipova na Sp1 veznom mjestu i pripadnost skupini

Učestalost pojave mjerenih genotipova (frekvencije i udjeli) za kontrolnu i ispitivanu skupinu prikazana je u Tablici 2. Vidljivo je da u kontrolnoj skupini prevladava genotip GG (81%), dok je navedeni genotip u eksperimentalnoj skupini zastupljen u 44 % ispitanika. Podaci o TG i TT genotipovima također su prikazani u Tabl. 2. Genotip TT je najrjeđi i pojavljuje se u svega 4% ispitanika u kontrolnoj skupini te 16% ispitanika s rupturom, pa upravo stoga opisana raspodjela sva tri genotipa nije statistički uspoređena (testirana), ali su uspoređene pojavnosti homozigota. Pojavnost purinske baze guanin, G u usporedbi s homozigotom TT podjednaka je u obje ispitivane skupine, ali je pojava pirimidinske baze T u usporedbi s homozigotom GG češća u ispitanika s rupturama (Tabl. 2,56 % i 19 %, respektivno; $P = 0,009$).

Tablica 2. Pojavnost genotipova na Sp1 veznom mjestu COL1A1 gena u odnosu na pripadnost skupini.

Varijabla		Kontrolna skupina N = 26	Ispitanici s rerupturom N = 25	Statistika
Genotip N (%)	GG	21 (81%)	11 (44%)	nije testirano*
	TG	4 (15%)	10 (40%)	
	TT	1 (4%)	4 (16%)	
Pojavnost G	GG + TG	25 (96%)	21 (84%)	P = 0,191
	TT	1 (4%)	4 (4%)	
Pojavnost T	TT + TG	5 (19%)	14 (56%)	P = 0,009
	GG	21 (81%)	11 (44%)	

Kratice: N – apsolutni broj ispitanika, P – učestalost (rezultat testiranja).

*Frekvencije nisu statistički uspoređene zbog malih učestalosti u pojedinim poljima (mala učestalost TT genotipa).

5.3. Vrsta sporta i pripadnost skupini

Analiza pripadnosti skupini s obzirom na vrstu sporta kojom se ispitanici bave prikazana u Tablici 3, pokazuje veliku heterogenost prema vrsti sporta, s očigledno većom učestalošću nogometaša (53,85% i 60%), odnosno većom učestalošću kontaktnih sportova (77% prema 92%) i natjecateljske razine bavljenja sportskom aktivnošću (84,62% i 92% prema rekreativnim aktivnostima (15,38% i 32%). Testiranjem gore navedenih skupina u odnosu na pripadnost kontrolnoj odnosno skupini ispitanika nije dokazana statistički značajna razlika (za sve $P > 0,05$, Tabl. 3).

Tablica 3. Brojnost ispitanika prema sportskoj aktivnosti.

Varijabla		Kontrolna skupina N = 26	Ispitanici s rupturom N = 25	Statistika
Sportska aktivnost N (%)	nogomet	14 (53,85%)	15 (60%)	nije testirano*
	rukomet	2(7,69%)	0	
	atletika	2(7,69%)	0	
	tenis	1(3,85%)	1(4%)	
	<i>softball</i>	1(3,85%)	0	
	plivanje	2(7,69%)	0	
	kuglanje	0	1(4%)	
	rekreativac	4(15,38%)	8(32%)	
Sportska aktivnost N (%)	kontaktni	20 (77%)	23 (92%)	$\chi^2 = 1,20$ SS = 1 P = 0,274
	nekontaktni	6 (23%)	2 (8%)	

Kratice: χ^2 – specifična vrijednost statističkog testa, SS – stupnjevi slobode, N – apsolutni broj ispitanika, P – učestalost (rezultat testiranja).

*Frekvencije nisu statistički uspoređene zbog malih učestalosti u pojedinim poljima.

5.4. Multivarijantna regresijska analiza

Upotrebom multivarijantne regresijske analize ispitali smo povezanost pojave homozigota (Tabl. 2) u ispitanika i svih ostalih pokazatelja istraživanja. U Tabl. 4 prikazana je usporedba za genotip GG+TG (pojavnost varijante G) u komparaciji s TT genotipom (homozigot), tj. učinjena je analiza u odnosu na sljedeće varijable: kontrolna i ispitivana skupina, dob, spol, visina, masa, BMI, kontaktni sportovi, nogomet, rekreativni sportovi. Nije pokazana statistički značajna povezanost ni jedne od varijabli s pojavnošću homozigota TT.

Tablica 4. Rezultat logističke regresije prema pojavnosti G (GG i TG prema TT)

Varijabla	Opis varijable	Statistika		
		beta	SE (beta)	P
Skupina	GG i TG prema TT	-11,91	6,96	0,087
Spol	muški vs. žene	2,12	2,55	0,406
Dob	god.	-0,76	0,48	0,113
visina	cm	2,91	3,44	0,398
masa	kg	-3,28	4,09	0,423
BMI	indeks	10,18	13,65	0,456
sportKNK=1	kontaktne vs. nekontaktne	17,83	8205,27	0,998
sportNOG=1	nogomet vs. ostali	-16,85	8205,27	0,998
sportRO=1	rekreativci vs. ostali	13,98	8669,84	0,999

Kratice: beta – vrijednost regresijskog koeficijenta logističke regresije, SE (beta) – standardna pogreška regresijskog koeficijenta, P – razina značajnosti.

Kad smo istu analizu proveli za usporedbu genotipa TG+TT (pojavnost gena T) u komparaciji s GG genotipom (homozigot) (Tabl. 5), pokazana je statistički značajna povezanost sa skupinama ispitivanja (kontrola i ispitanici, P = 0,013), tj. rezultat koji je sukladan onom u Tabl. 2, a ni jedna druga varijabla nije se pokazala statistički značajnom.

Tablica 5. Rezultat logističke regresije prema pojavnosti T (TG i TT prema GG)

Varijabla	Opis varijable	Statistika		
		beta	SE (beta)	P
Skupina	TG i TT prema GG	2,29221	0,9273	0,0134
Spol	muški vs. žene	-3,25183	1,93873	0,0935
dob	god.	0,078811	0,072638	0,2779
visina	cm	-1,18399	0,72981	0,1047
Masa	kg	1,2958	0,82505	0,1163
BMI	indeks	-4,45978	2,65363	0,0928
sportKNK=1	kontaktni vs. nekontaktni	-16,59476	2782,50331	0,9952
sportNOG=1	nogomet vs. ostali	16,28896	2782,50372	0,9953
sportRO=1	rekreativci vs. ostali	15,025	2782,50379	0,9957

Kratice: beta – vrijednost regresijskog koeficijenta logističke regresije, SE (beta) – standardna pogreška regresijskog koeficijenta, P – razina značajnosti.

Time je ova studija potvrdila značajnu povezanost rupture grafa s pripadnošću odgovarajućem genotipu, a što je potvrđeno hi kvadrat testom i dodatno upotrebom logističke regresije. Osim genotipa, dob ispitanika se također pokazala kao značajan čimbenik za pojavu rupture grafa.

6. RASPRAVA

Faktori vezani uz povećanu učestalost ozljeda su brojni i opisani su u uvodnom dijelu rada, a obuhvaćaju anatomske, hormonske, biomehaničke i neuromuskularne faktore. Utjecaj genetske komponente na predispoziciju za ozljedu je slabije istražen.

U uvodu opisana multifaktorijalnost u ozljeđivanju odnosno svaki od već do sada u studijama etabliranih faktora rizika govori o mogućnosti istovremenog utjecaja više faktora koji se isprepliću kod svakog pojedinca koji je pretrpio ozljedu prednje ukrižene sveze. Iz te multifaktorijalnosti proizlaze i potencijalni prigovori rezultatima naše studije. Namjera studije je bila naravno da se kroz uzorak promatranih pacijenata maksimalno eliminiraju svi navedeni faktori te se izdvoji relativno homogena populacija koja bi mogla sadržavati viši postotak pacijenata koji imaju genetsku sklonost k ozljedi. Svi pacijenti koji su operirani i pretrpjeli rupturu grafta postoperativno su eliminirali hormonski faktor pošto sam graft nije hormonski osjetljiv, neuromuskularni faktor je donekle anuliran rehabilitacijskim programom, a pozicioniranje grafta tijekom operacije i provjera postojanja sraza s okolnim strukturama je donekle eliminirala anatomske faktore. Razdoblje od minimalno godine dana nakon operacije i povratak prijašnjoj razini bavljenja sportom kao preduvjet za uključivanje u studiju trebao je eliminirati ostale najčešće faktore rizika za rerupturu odnosno ozljedu grafta nakon operacije - tehničku grešku, biološko propadanje grafta te ponovljenu traumu. Upravo to razdoblje od godinu dana eliminiralo je iz uzorka one koji su imali ponovljenu ozljedu, a kao posljedicu nekog od „ostalih“ faktora, a ne genetske predispozicije.

U radovima naših prethodnika identificirana je povećana učestalost ruptore ligamenata vezano uz polimorfizam, a naša je želja bila proučiti predispoziciju za ozljedu tetiva semitendinozusa i gracilisa pošto se one upotrebljavaju u rekonstrukciji. Njihov visoki postotak kolagena tipa I također ih je učinio pogodnim za ispitivanje baš ovog polimorfizma. Gledano kroz proporciju kolagena tipa I u različitim graftovima idealniji bi možda bili pacijenti kod kojih je rekonstrukcija napravljena samo sa semitendinosusom.¹¹⁴ Međutim naš način rekonstrukcije je uključivao veliki broj rekonstrukcija izvršenih upotrebom obiju tetiva, dok za samo semitendinosus rekonstrukcije jednostavno ne bismo skupili dovoljan uzorak.

Sljedeći nedostatak naše studije je i relativno mali uzorak, ali on je takav upravo radi strogih kriterija uključenja u studiju. Djelomično je otegotna okolnost bila i nesklonost pacijenata da sudjeluju u istraživanju.

Sam proces inkorporacije grafta je vrlo složen i traje dugo te postoje brojni faktori koji su opisani ranije, a koji mogu utjecati na nepovoljan ishod operacije. Upravo zato smo i uzeli u obzir samo one koji su prošli rehabilitaciju i bili zadovoljni ishodom rekonstrukcije u periodu od najmanje godinu dana. Također, postavlja se i pitanje neprepoznate rupture grafta u razdoblju prije godinu dana te postavljanja dijagnoze neuspjele rekonstrukcije. Definitivna dijagnoza je potvrđena intraoperativno, a razdoblje od minimalno godinu dana je definirano i potvrđeno na temelju anamneze o odsustvu bilo kakvih simptoma odnosno kliničkog nalaza vezano uz operirano koljeno.

Prvi rad o polimorfizmu Sp1 veznog mjesta u slučaju osteoporoze objavljen u Nature Genetics 1996 .g. potvrdio je povećanu sklonost patološkim frakturama i ta je povezanost bila izraženija kod pacijenata s pojavom baze T što je dodatno, a neovisno o utjecaju BMD-a (gustoće kosti) i BMI-a doprinosilo povećanoj učestalosti osteoporotičnih fraktura.^{108, 109}

Grupa autora iz Južnoafričke Republike istraživala je na tamošnjoj populaciji sklonost k ozljedama ligamentarnog i tetivnog sustava te su u nekim radovima uspjeli dokazati protektivni genotip za ozljedu koji je po njima TT i to za ozljedu prednje križne sveze.^{20, 148} U studiji Khoschnau i suradnika provedenoj na švedskoj populaciji nađena je prevalencija TT genotipa od 4% u nasumičnoj populaciji, dok je prevalencija TT genotipa u ozlijeđenih bila oko 0,4% tako da je također zaključeno kako je TT genotip protektivan za ozljede prednje ukrižene sveze.¹⁵⁵ S druge strane grupa autora iz Poljske je utvrdila na uzorku tamošnje populacije skijaša da je prisutnost gvanina protektivna za ozljedu prednjeg križnog ligamnta odnosno da pojava timina povećava rizik od ozljede za 1,43 puta.^{156, 157} Kod tumačenja njihovih rezultata potrebno je uzeti u obzir i populaciju na kojoj je analiza provedena, a koja je različita te je uzorak bio manji u odnosu na skupinu autora iz Južnoafričke Republike.

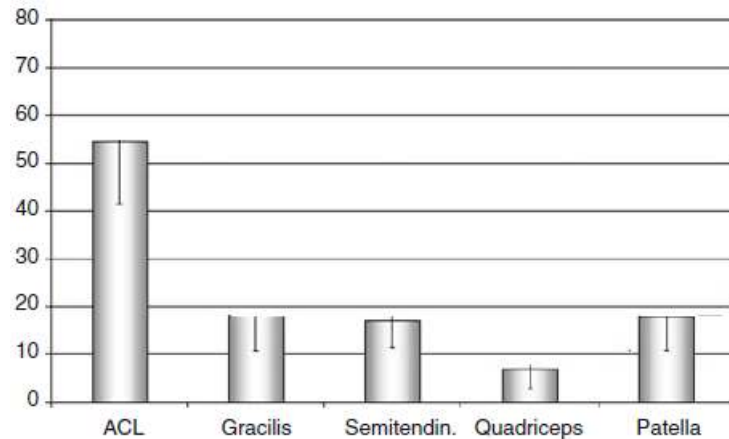
Suprotno radovima koji pokazuju da TT genotip djeluje protektivno na ozljede prednje ukrižene sveze naši rezultati govore u prilog činjenice da pojava T na Sp1 veznom mjestu COL1A1 gena ima utjecaj na predispoziciju ka ozljedi. Ovaj nalaz ima i potporu u nekim dosadašnjim navedenim istraživanjima te se čini i logičan u odnosu na opisane promjene u biomehaničkim osobinama kolagena.¹⁵¹

U dosadašnjim radovima pokazana je promjena mehaničkih svojstava kolagena tipa 1 zbog promjena na Sp1 veznom mjestu koje je regulator transkripcije. Tako bi objašnjenje ovog našeg rezultata moglo biti da promjena baze Guanin u Timin na promotorskom mjestu Sp1 uzrokuje povećanje afiniteta za transkripcijski faktor te zbog toga dolazi do povećanja sinteze alfa 1 lanaca. Kako je već opisano, to opet dovodi do povećanja broja alfa 1 lanaca te povećanja broja alfa1 homotrimeri koji, kako je potvrđeno, ima promijenjena biomehanička svojstva. Promjena se sastoji u povećanju krutosti odnosno smanjenju elastičnosti.¹⁵¹ S obzirom na opisane promjene krutosti i smanjenja elastičnosti u situacijama djelovanja sila kojima su izloženi rekonstruirani pacijenti, moguće je i da ozljeda nastupi češće nego u skupini kod koje je elastičnost presatka veća.

Postavlja se opravdano i pitanje utjecaja baš genotipa na učestalost rerupture pošto su svi pacijenti pretrpjeli ozljedu, odnosno nije postojala kontrolna skupina zdravih pacijenata. Kontrolna skupina u našem istraživanju „zdravih“ pacijenata u stvari su operirani bolesnici koji nisu pretrpjeli ponovnu ozljedu ligamenta. Operativni zahvat naime ne popravljaju puknuti ligament drugim koji nije isti po sastavu, nego se popravak vrši tetivama koje se stavljaju na njegovo mjesto, a čiji je sastav i s aspekta kolagenskog sastava drugačiji nego što je sastav nativnog ligamenta. Proučavanje sastava, odnosno identificiranje razlika u sastavu nativnog ACL-a u odnosu na presatke ukazuje na značajne razlike u sastavu kada se gledaju omjeri stanica i fibrila, te omjeri različitih tipova kolagena u nativnom ACL-u u odnosu na tetive hamstringsa. Samim time i naš rezultat pokazuje predispoziciju za ozljedu tetiva hamstringsa i gracilisa, a ne prednje ukrižene sveze.

ACL ima puno manji postotak fibrila uključen u svoju strukturu odnosno ima više fibroblasta, bolje je prokrvljen u odnosu na hamstrings tetive, ima tri puta više elastičnih vlakana u odnosu na hamstrings tetive, a gustoća kolagena tipa I je daleko niža u nativnom ACL-u u odnosu na tetivu gracilisa i semitendinozusa. ACL ima relativno viši postotak kolagena tipa 3 u svom sastavu. Sve te činjenice koje govore o razlici u sastavu odnosno visokom postotku kolagena tipa I opravdavaju izbor rekonstruiranih tetivama kao uzorka za analizu polimorfizma upravo COL1A1 gena.

Zanimljiva bi bila analiza polimorfizama gena uključenih u sintezu kolagena tipa 3 i predispozicije za ozljedu ACL-a s obzirom na gustoću kolagena tipa III od gotovo 60% u nativnom ACL-u.



Slika 17. Udio kolagena tip III u pojedinim tetivama korištenim za rekonstrukcije.

(preuzeto iz: Hadjicostas PT, Soucacos PN, Koleganova N, Krohmer G, Berger I. Comparative and morphological analysis of commonly used autografts for anterior cruciate ligament reconstruction with the native ACL: an electron, microscopic and morphologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2008 Dec;16(12):1099-10)

Upravo opisani sastav presatka tetiva semitendinozusa i gracilisa u odnosu na nativni ligament mogao bi i biti razlog ovakve razlike u rezultatima za rupturu nativnog ligamenta i presadaka koji su *de facto* tetive i značajno se razlikuju u proporciji kolagena tipa 1.

U statističkoj analizi, osim parametra genotip značajnim se pokazao i parametar dob, dok BMI nije pokazao značaj. U uzorku se uglavnom radi o aktivnim sportašima koji nemaju velike varijacije u BMI-ju odnosno populacija nije nasumična već probrana u smislu da se većina operiranih nakon ozljede vratila sportu kojim se i inicijalno bavila na razini prije ozljede.

Mlađa dob kao značajan faktor rizika za rupturu grafta pokazana je u velikom broju studija.¹⁵⁸ U Tablici 1 se vidi da je srednja dob u eksperimentalnoj skupini za oko četiri godine niža odnosno da se mlađi pacijenti češće ozljeđuju. To je i u skladu s većinom studija o rerupturama gdje se mlađa dob nameće kao značajan faktor rizika za ponovljenu ozljedu. To se može pripisati nivou aktivnosti odnosno dob možda nije neovisan faktor za ozljedu.⁸² Posljednjih godina brojna istraživanja su usmjerena prema proučavanju utjecaja procesa starenja na biomehanička svojstva tetiva i ligamenata. Glikacija proteina u sklopu starenja je tema proučavanja brojnih studija od kojih neke nisu uspjele dovesti u vezu sam proces glikacije s promjenama u viskoelastičnosti tetiva i mekih tkiva, dok je u drugima implicirana

uzročno-posljedična veza koja se objašnjava gubitkom klizanja među glikoziliranim fibrilima što onda u naporu rezultira povećanim rastezanjem vlakana i nižim pragom rastezljivosti prije pucanja.^{132, 133} Drugim riječima navedene promjene rezultiraju u smanjenoj elastičnosti i povećanoj krutosti ligamenata. No navedene promjene u relativno mladoj populaciji koju smo ispitivali ne bi smjele biti signifikantne pa samim time najvjerojatnije nisu ni utjecale na naše rezultate.

Intenzitet treninga je također dokazano važan faktor za inicijalnu, a samim time i ponovljenu ozljedu križnog ligamenta te je kao faktor potencijalno značajan. Naša analizirana populacija je što se tiče intenziteta treninga homogenizirana. U analiziranim skupinama prevladavaju aktivni sportaši koji se uglavnom bave nogometom te su svi naši ispitanici nakon inicijalne ozljede i nakon postoperativne rehabilitacije zadržali isti nivo bavljenja sportom.

Primjetno je i prevladavanje muškog spola u obje proučavane skupine pa i samom tom činjenicom rezultat istraživanja možda ima i dodatnu težinu. Naime, u ranijim radovima je primjerice dokazano da je ženski spol samostalan faktor koji doprinosi riziku za rupturu što je onda u nekim studijama također objašnjavano kao posljedica povećanog laksiteta ligamenata naročito u korelaciji s menstrualnim ciklusom, te kao posljedica anatomskih karakteristika interkondilarne udubine ili pak kao posljedica neuromuskularnih osobitosti kod primjerice doskoka kod ženske populacije.^{23, 33}

Kada promatramo podložnost ligamentarnog i tetivnog sustava na ozljedu, u literaturi možemo naći značajan broj radova posvećenih analizi polimorfizama drugih gena i njihovom utjecaju na učestalost ozljeđivanja. Do sada su u radovima iz ovog područja manje ili više opsežno proučeni COL5A1, COL12A1, COL14A1, TNC (Tenscine C gen), MMP3 (Matrix metalopeptidaza 3 gen), TGFB1 (Transforming growth factor beta 1 gen), GDF-5 (Growth/differentiation factor-5 gen).¹⁵⁹ Rezultati našeg istraživanja u ulozi T/G polimorfizma u COL1A1 genu doprinos su rastućoj znanstvenoj informaciji o patologiji ozljede i liječenja ruptore prednje ukrižene sveze koljena.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata naše studije možemo zaključiti da pojavnost timina(T) na Sp1 veznom mjestu gena COL1A1 kod osoba sa GT i TT genotipom povećava predispoziciju za ozljedu grafta tetiva semitendinozusa i gracilisa.

Nadalje, u našoj je studiji pokazana i statistički značajna razlika za ponovljenu ozljedu kod mlađih pacijenata što je u skladu s rezultatima ranije provedenih studija na ovom području.

Rezultati ovog istraživanja mogli bi naći primjenu u preoperativnoj analizi Sp1 polimorfizma i izboru grafta s nižim rizičnim genotipom. Time bi se pacijentu poboljšali izgledi za uspješni rezultat rekonstrukcije.

Koji bi to graft bio s obzirom na visok postotak kolagena tipa I u svim najčešćim graftovima, teško je odgovoriti. S obzirom na lošije rezultate rekonstrukcije alograftovima u odnosu na autograftove možda bi u slučaju rupture primarnog autografta najprikladniji za reviziju bio alograft; naravno, ako se prethodnom genotipizacijom potvrdi pripadnost grupi s povećanom sklonošću za ponovnu ozljedu. Dati preporuku da se inicijalna rekonstrukcija provede alograftom bilo bi prehrabro bez dodatnih istraživanja. Također bi bilo zanimljivo i ispitati postoji li slična predispozicija kod ostalih graftova te uključiti u studiju što veći broj genskih polimorfizama za koje se pretpostavlja moguća povezanost s predispozicijom za ozljedu mekih tkiva.

8. SAŽETAK

Više do sada objavljenih radova implicira genetsku predispoziciju za ozljedu tetiva i ligamenata. Istraživanja su potvrdila ovu pretpostavku za ozljedu ligamenata, ali ne i za tetive. Prilikom rekonstrukcije puknute prednje križne sveze koriste se vlastite tetive kao presadak koji zamjenjuje ligament. Istraživanje je provedeno na pacijentima operiranim u Zavodu za ortopediju KB Sveti Duh u razdoblju od lipnja 2007. do lipnja 2012. godine. Retrospektivno su iz operacijskih protokola izdvojeni pacijenti koji su operirani zbog rerupture prednje križne sveze, odnosno rupture grafta tetiva semitendinosusa i gracilisa. Od operiranih pacijenata izdvojili smo one koji su u postoperativnom periodu odnosno nakon završene rehabilitacije imali rupturu tetivnih graftova. Iz uzorka su isključeni pacijenti kod kojih je došlo do rupturu tetivnog grafta u razdoblju godinu dana od operacije, a čemu je uzrok najvjerojatnije vezan uz samu operaciju ili neadekvatno provedenu rehabilitaciju. Kontrolnu skupinu činili su operirani pacijenti koji nisu imali ponovnu ozljedu, a po unaprijed definiranim parametrima bili su što sličniji ispitanicima. Provedena je DNA analiza na polimorfizam Sp1 veznog mjesta COL1A1 gena te su dobiveni rezultati ukazali na povećanu sklonost za ozljeđivanje tetiva u skupini ispitanika kod kojih se pojavljuje dušična baza timin u genotipu. Također, statističkom je analizom mlađa dob ispitanika bila faktor koji povećava sklonost ozljeđivanju.

9. SUMMARY

Recently published papers implicate a genetic predisposition towards tendon and ligament injury. Studies have shown that COL1A1 Sp1 binding site polymorphism was implicated in ACL ruptures, however findings for tendon ruptures are inconclusive. ACL reconstruction is performed using autologous grafting of gracilis and semitendinosus tendons. This study was conducted on patients operated by a single surgeon in University Hospital „Sveti Duh” from June 2007 until June 2012. A retrospective analysis of the operated patients was performed and a group of patients with graft ruptures was identified. We excluded from the sample those patients that suffered a ree injury in the early postoperative period of up to one year after the surgery. This was done in order to exclude the possible influence of technical errors during surgery and rehabilitation protocol errors on graft injury. The control group of patients consisted of injured patients at least one year after surgery that returned to their preoperative level of activity. The genetic polymorphism of the Sp1 binding site of the COL1A1 gene was assessed in the DNA extracted from peripheral leukocytes of the two groups. After statistically interpreting the results of the DNA analysis our conclusion is that the presence of Thymine (T) on Sp1 binding site of COL1A1 gene increases the risk for tendon injury in patients operated for ACL rupture. Furthermore, the statistical analysis performed also identified younger age as a risk factor for tendon injury.

10. LITERATURA

1. Clayton RA, Court-Brown CM. The epidemiology of musculoskeletal tendinous and ligamentous injuries. *Injury* 2008;39:1338-1344. doi: 1310.1016/j.injury.2008.1306.1021. Epub 2008 Nov 1325.
2. Lohmander LS, Englund PM, Dahl LL, Roos EM. The long-term consequence of anterior cruciate ligament and meniscus injuries: osteoarthritis. *Am J Sports Med* 2007;35:1756-1769. Epub 2007 Aug 1729.
3. Renstrom P, Ljungqvist A, Arendt E, i sur. Non-contact ACL injuries in female athletes: an International Olympic Committee current concepts statement. *Br J Sports Med* 2008;42:394-412. doi: 310.1136/bjism.2008.048934.
4. Dragoo JL, Braun HJ, Durham JL, Chen MR, Harris AH. Incidence and risk factors for injuries to the anterior cruciate ligament in National Collegiate Athletic Association football: data from the 2004-2005 through 2008-2009 National Collegiate Athletic Association Injury Surveillance System. *The American journal of sports medicine* 2012;40:990-995.
5. Potter HG, Jain SK, Ma Y, Black BR, Fung S, Lyman S. Cartilage injury after acute, isolated anterior cruciate ligament tear: immediate and longitudinal effect with clinical/MRI follow-up. *Am J Sports Med* 2012;40:276-285. doi: 210.1177/0363546511423380. Epub 0363546511422011 Sep 0363546511423327.
6. Orchard J, Seward H, McGivern J, Hood S. Rainfall, evaporation and the risk of non-contact anterior cruciate ligament injury in the Australian Football League. *Med J Aust* 1999;170:304-306.
7. Orchard JW, Powell JW. Risk of knee and ankle sprains under various weather conditions in American football. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1118-1123.
8. Orchard J. Is there a relationship between ground and climatic conditions and injuries in football? *Sports Med* 2002;32:419-432.
9. Orchard JW, Chivers I, Aldous D, Bennell K, Seward H. Rye grass is associated with fewer non-contact anterior cruciate ligament injuries than bermuda grass. *Br J Sports Med* 2005;39:704-709.

10. Hoff GL, Martin TA. Outdoor and indoor soccer: injuries among youth players. *Am J Sports Med* 1986;14:231-233.
11. Olson D, Sikka RS, Labounty A, Christensen T. Injuries in professional football: current concepts. *Current sports medicine reports* 2013;12:381-390.
12. Souryal TO, Moore HA, Evans JP. Bilaterality in anterior cruciate ligament injuries: associated intercondylar notch stenosis. *Am J Sports Med* 1988;16:449-454.
13. Stijak L, Herzog RF, Schai P. Is there an influence of the tibial slope of the lateral condyle on the ACL lesion? A case-control study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:112-117. doi: 110.1007/s00167-00007-00438-00161. Epub 02007 Nov 00116.
14. Myer GD, Ford KR, Paterno MV, Nick TG, Hewett TE. The effects of generalized joint laxity on risk of anterior cruciate ligament injury in young female athletes. *Am J Sports Med* 2008;36:1073-1080. doi: 1010.1177/0363546507313572. Epub 0363546507312008 Mar 0363546507313577.
15. Uhorchak JM, Scoville CR, Williams GN, Arciero RA, St Pierre P, Taylor DC. Risk factors associated with noncontact injury of the anterior cruciate ligament: a prospective four-year evaluation of 859 West Point cadets. *Am J Sports Med* 2003;31:831-842.
16. Mizuno Y, Kumagai M, Mattessich SM, i sur. Q-angle influences tibiofemoral and patellofemoral kinematics. *J Orthop Res* 2001;19:834-840.
17. Buchanan PA, Vardaxis VG. Sex-Related and Age-Related Differences in Knee Strength of Basketball Players Ages 11-17 Years. *J Athl Train* 2003;38:231-237.
18. Chaudhari AM, Zelman EA, Flanigan DC, Kaeding CC, Nagaraja HN. Anterior cruciate ligament-injured subjects have smaller anterior cruciate ligaments than matched controls: a magnetic resonance imaging study. *The American journal of sports medicine* 2009;37:1282-1287.
19. Flynn RK, Pedersen CL, Birmingham TB, Kirkley A, Jackowski D, Fowler PJ. The familial predisposition toward tearing the anterior cruciate ligament: a case control study. *Am J Sports Med* 2005;33:23-28.
20. Posthumus M, September AV, Keegan M, i sur. Genetic risk factors for anterior cruciate ligament ruptures: COL1A1 gene variant. *Br J Sports Med* 2009;43:352-356. doi: 310.1136/bjism.2008.056150. Epub 052009 Feb 056154.
21. Posthumus M, September AV, O'Cuinneagain D, van der Merwe W, Schwellnus MP, Collins M. The association between the COL12A1 gene and anterior cruciate ligament

ruptures. *Br J Sports Med* 2010;44:1160-1165. doi: 1110.1136/bjism.2009.060756. Epub 062009 May 060713.

22. September AV, Schweltnus MP, Collins M. Tendon and ligament injuries: the genetic component. *British journal of sports medicine* 2007;41:241-246; discussion 246.
23. Hewett TE, Zazulak BT, Myer GD. Effects of the menstrual cycle on anterior cruciate ligament injury risk: a systematic review. *Am J Sports Med* 2007;35:659-668. Epub 2007 Feb 2009.
24. Martineau PA, Al-Jassir F, Lenczner E, Burman ML. Effect of the oral contraceptive pill on ligamentous laxity. *Clin J Sport Med* 2004;14:281-286.
25. Zazulak BT, Paterno M, Myer GD, Romani WA, Hewett TE. The effects of the menstrual cycle on anterior knee laxity: a systematic review. *Sports Med* 2006;36:847-862.
26. Bell DR, Blackburn JT, Norcorss MF, i sur. Estrogen and muscle stiffness have a negative relationship in females. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012;20:361-367.
27. Withrow TJ, Huston LJ, Wojtys EM, Ashton-Miller JA. The relationship between quadriceps muscle force, knee flexion, and anterior cruciate ligament strain in an in vitro simulated jump landing. *Am J Sports Med* 2006;34:269-274. Epub 2005 Oct 2031.
28. Withrow TJ, Huston LJ, Wojtys EM, Ashton-Miller JA. The effect of an impulsive knee valgus moment on in vitro relative ACL strain during a simulated jump landing. *Clinical biomechanics* 2006;21:977-983.
29. Colby S, Francisco A, Yu B, Kirkendall D, Finch M, Garrett W, Jr. Electromyographic and kinematic analysis of cutting maneuvers. Implications for anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med* 2000;28:234-240.
30. Zebis MK, Bencke J, Andersen LL, i sur. The effects of neuromuscular training on knee joint motor control during sidecutting in female elite soccer and handball players. *Clin J Sport Med* 2008;18:329-337. doi: 310.1097/JSM.1090b1013e31817f31813e31835.
31. Kibler WB, Livingston B. Closed-chain rehabilitation for upper and lower extremities. *J Am Acad Orthop Surg* 2001;9:412-421.
32. Alentorn-Geli E, Alvarez-Diaz P, Ramon S, i sur. Assessment of neuromuscular risk factors for anterior cruciate ligament injury through tensiomyography in male soccer players. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2015;23:2508-2513.
33. Campbell CJ, Carson JD, Diaconescu ED, i sur. Canadian Academy of Sport and Exercise Medicine position statement: Neuromuscular training programs can decrease anterior

cruciate ligament injuries in youth soccer players. *Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine* 2014;24:263-267.

34. Sugimoto D, Myer GD, Foss KD, Hewett TE. Specific exercise effects of preventive neuromuscular training intervention on anterior cruciate ligament injury risk reduction in young females: meta-analysis and subgroup analysis. *British journal of sports medicine* 2015;49:282-289.
35. Peterson JR, Krabak BJ. Anterior cruciate ligament injury: mechanisms of injury and strategies for injury prevention. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America* 2014;25:813-828.
36. Blackburn JT, Padua DA. Influence of trunk flexion on hip and knee joint kinematics during a controlled drop landing. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2008;23:313-319. Epub 2007 Nov 2026.
37. Berns GS, Hull ML, Patterson HA. Strain in the anteromedial bundle of the anterior cruciate ligament under combination loading. *J Orthop Res* 1992;10:167-176.
38. Boden BP, Dean GS, Feagin JA, Jr., Garrett WE, Jr. Mechanisms of anterior cruciate ligament injury. *Orthopedics* 2000;23:573-578.
39. Woo SL, Hollis JM, Adams DJ, Lyon RM, Takai S. Tensile properties of the human femur-anterior cruciate ligament-tibia complex. The effects of specimen age and orientation. *Am J Sports Med* 1991;19:217-225.
40. Brown SR, Brughelli M, Hume PA. Knee mechanics during planned and unplanned sidestepping: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med* 2014;44:1573-1588.
41. Bjordal JM, Arnly F, Hannestad B, Strand T. Epidemiology of anterior cruciate ligament injuries in soccer. *Am J Sports Med* 1997;25:341-345.
42. Dejour H, Dejour D, Ait Si Selmi T. [Chronic anterior laxity of the knee treated with free patellar graft and extra-articular lateral plasty: 10-year follow-up of 148 cases]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1999;85:777-789.
43. Atarod M, Frank CB, Shrive NG. Increased meniscal loading after anterior cruciate ligament transection in vivo: a longitudinal study in sheep. *The Knee* 2015;22:11-17.
44. Krutsch W, Zellner J, Baumann F, Pfeifer C, Nerlich M, Angele P. Timing of anterior cruciate ligament reconstruction within the first year after trauma and its influence on treatment of cartilage and meniscus pathology. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2015.
45. Musahl V, Citak M, O'Loughlin PF, Choi D, Bedi A, Pearle AD. The effect of medial versus lateral meniscectomy on the stability of the anterior cruciate ligament-deficient knee.

- Am J Sports Med 2010;38:1591-1597. doi: 1510.1177/0363546510364402. Epub 0363546510362010 Jun 0363546510364408.
46. Cameron M, Buchgraber A, Passler H, i sur. The natural history of the anterior cruciate ligament-deficient knee. Changes in synovial fluid cytokine and keratan sulfate concentrations. *Am J Sports Med* 1997;25:751-754.
 47. Lorbach O, Kieb M, Herbort M, Weyers I, Raschke M, Engelhardt M. The influence of the medial meniscus in different conditions on anterior tibial translation in the anterior cruciate deficient knee. *International orthopaedics* 2015;39:681-687.
 48. Papageorgiou CD, Gil JE, Kanamori A, Fenwick JA, Woo SL, Fu FH. The biomechanical interdependence between the anterior cruciate ligament replacement graft and the medial meniscus. *Am J Sports Med* 2001;29:226-231.
 49. Oiestad BE, Engebretsen L, Storheim K, Risberg MA. Knee osteoarthritis after anterior cruciate ligament injury: a systematic review. *Am J Sports Med* 2009;37:1434-1443. doi: 1410.1177/0363546509338827.
 50. Culvenor AG, Cook JL, Collins NJ, Crossley KM. Is patellofemoral joint osteoarthritis an under-recognised outcome of anterior cruciate ligament reconstruction? A narrative literature review. *Br J Sports Med* 2013;47:66-70. doi: 10.1136/bjsports-2012-091490. Epub 092012 Oct 091494.
 51. Neuman P, Kostogiannis I, Friden T, Roos H, Dahlberg LE, Englund M. Patellofemoral osteoarthritis 15 years after anterior cruciate ligament injury--a prospective cohort study. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:284-290. doi: 210.1016/j.joca.2008.1007.1005. Epub 2008 Sep 1013.
 52. Nebelung W, Wuschech H. Thirty-five years of follow-up of anterior cruciate ligament-deficient knees in high-level athletes. *Arthroscopy* 2005;21:696-702.
 53. Foster A, Butcher C, Turner PG. Changes in arthroscopic findings in the anterior cruciate ligament deficient knee prior to reconstructive surgery. *The Knee* 2005;12:33-35.
 54. Higuchi H, Shirakura K, Kimura M, i sur. Changes in biochemical parameters after anterior cruciate ligament injury. *International orthopaedics* 2006;30:43-47.
 55. Bigoni M, Sacerdote P, Turati M, i sur. Acute and late changes in intraarticular cytokine levels following anterior cruciate ligament injury. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 2013;31:315-321.
 56. A B. *Traite des maladies des articulations. Treatise on joint diseases* 1845.

57. Adams R. Abnormal conditions of the knee joint. In: RB T, editor. *Cyclopedia of anatomy and physiology*. London: Sherwood Gilbert&Piper; 1847. p. 48-78.
58. J S. Two cases of rupture of the crucial ligament of the knee joint. In: *Edinb Med Surg*; 1850. p. 267-271.
59. Mayo R. Ruptured crucial ligaments and their repair by operation. *Ann Surg* 1903;37:716-718.
60. Hey Groves E. Operation for the repair of crucial ligaments. *Lancet* 1917;190:674-675.
61. EW HG. The crucial ligaments of the knee joint; their function, rupture and operative treatment of the same. *Br J Surg* 1920;7:505-515.
62. Payr E. Der heutige Stand der Gelenkchirurgie. In: *Verhandlungen der Deutschen Gessellschaft fur Chirurgie*; 1927: *Arch klin Chir*; 1927. p. 404-521.
63. O'Donoghue DH. Surgical treatment of fresh injuries to the major ligaments of the knee. *J Bone Joint Surg Am* 1950;32 A:721-738.
64. Engebretsen L, Benum P, Fasting O, Molster A, Strand T. A prospective, randomized study of three surgical techniques for treatment of acute ruptures of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 1990;18:585-590.
65. Kohl S, Stock A, Ahmad SS, i sur. Dynamic intraligamentary stabilization and primary repair: a new concept for the treatment of knee dislocation. *Injury* 2015;46:724-728. doi: 710.1016/j.injury.2014.1010.1012. Epub 2014 Oct 1016.
66. Slocum DB, Larson RL, James SL. Late reconstruction of ligamentous injuries of the medial compartment of the knee. *Clinical orthopaedics and related research* 1974:23-55.
67. Losee RE, Johnson TR, Southwick WO. Anterior subluxation of the lateral tibial plateau. A diagnostic test and operative repair. *The Journal of bone and joint surgery American volume* 1978;60:1015-1030.
68. Andrews JR, Sanders R. A "mini-reconstruction" technique in treating anterolateral rotatory instability (ALRI). *Clinical orthopaedics and related research* 1983:93-96.
69. Marcacci M, Zaffagnini S, Giordano G, Iacono F, Presti ML. Anterior cruciate ligament reconstruction associated with extra-articular tenodesis: A prospective clinical and radiographic evaluation with 10- to 13-year follow-up. *The American journal of sports medicine* 2009;37:707-714.
70. Loh JC, Fukuda Y, Tsuda E, Steadman RJ, Fu FH, Woo SL. Knee stability and graft function following anterior cruciate ligament reconstruction: Comparison between 11 o'clock

and 10 o'clock femoral tunnel placement. 2002 Richard O'Connor Award paper. *Arthroscopy* 2003;19:297-304.

71. Cowan DJ. Reconstruction of the Anterior Cruciate Ligament by the Method of Kenneth Jones (1963). *Proc R Soc Med* 1965;58:336-338.

72. Bruckner H. [A new method for plastic surgery of cruciate ligaments]. *Chirurg* 1966;37:413-414.

73. Clancy WG, Jr. Intra-articular reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Orthop Clin North Am* 1985;16:181-189.

74. Franke K. Clinical experience in 130 cruciate ligament reconstructions. *Orthop Clin North Am* 1976;7:191-193.

75. Blauth W. [2-strip substitution-plasty of the anterior cruciate ligament with the quadriceps tendon]. *Unfallheilkunde* 1984;87:45-51.

76. Galeazzi R. La ricostituzione dei ligamenti cociati del ginocchio. *Atti e Memorie della Societa Lombarda di Chirurgia* 1924;13:302-317.

77. Villiger KJ. [Experience with 250 dynamic, proximal muscular pedicled, anterior cruciate ligament-plasties (Lindemann)]. *Der Chirurg; Zeitschrift fur alle Gebiete der operativen Medizen* 1984;55:710-716.

78. Friedman MJ, Sherman OH, Fox JM, Del Pizzo W, Snyder SJ, Ferkel RJ. Autogenic anterior cruciate ligament (ACL) anterior reconstruction of the knee. A review. *Clinical orthopaedics and related research* 1985:9-14.

79. Fu FH, Jordan SS. The lateral intercondylar ridge--a key to anatomic anterior cruciate ligament reconstruction. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:2103-2104.

80. Fu FH, Karlsson J. A long journey to be anatomic. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18:1151-1153. doi: 1110.1007/s00167-00010-01222-00161.

81. Li H, Tao H, Cho S, Chen S, Yao Z, Chen S. Difference in graft maturity of the reconstructed anterior cruciate ligament 2 years postoperatively: a comparison between autografts and allografts in young men using clinical and 3.0-T magnetic resonance imaging evaluation. *Am J Sports Med* 2012;40:1519-1526. doi: 1510.1177/0363546512443050. Epub 0363546512442012 Apr 0363546512443011.

82. Kaeding CC, Aros B, Pedroza A, i sur. Allograft Versus Autograft Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: Predictors of Failure From a MOON Prospective Longitudinal Cohort. *Sports Health* 2011;3:73-81.

83. Lange F. Uber Sehnenplastik. *Verh Dtsch Orthop Ges* 1903;2:10-12.

84. Lange F. Kunstliche Glenkbander aus Seide. *Munch Med Wschr* 1907;52:834-836.
85. Maletius W, Gillquist J. Long-term results of anterior cruciate ligament reconstruction with a Dacron prosthesis. The frequency of osteoarthritis after seven to eleven years. *Am J Sports Med* 1997;25:288-293.
86. Kraeutler MJ, Bravman JT, McCarty EC. Bone-patellar tendon-bone autograft versus allograft in outcomes of anterior cruciate ligament reconstruction: a meta-analysis of 5182 patients. *Am J Sports Med* 2013;41:2439-2448. doi: 2410.1177/0363546513484127. Epub 0363546513482013 Apr 0363546513484112.
87. Plitz W, Huber J. [Mechanical properties of temporary, alloplastic materials for the replacement of anterior cruciate ligaments]. *Aktuelle Probl Chir Orthop* 1983;25:60-63.
88. Jiang J, Wan F, Yang J, i sur. Enhancement of osseointegration of polyethylene terephthalate artificial ligament by coating of silk fibroin and depositing of hydroxyapatite. *International journal of nanomedicine* 2014;9:4569-4580.
89. Batty LM, Norsworthy CJ, Lash NJ, Wasiak J, Richmond AK, Feller JA. Synthetic devices for reconstructive surgery of the cruciate ligaments: a systematic review. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association* 2015;31:957-968.
90. Mohtadi NG, Chan DS, Dainty KN, Whelan DB. Patellar tendon versus hamstring tendon autograft for anterior cruciate ligament rupture in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD005960. doi: 005910.001002/14651858.CD14005960.pub14651852.
91. Zaffagnini S, Bruni D, Marcheggiani Muccioli GM, i sur. Single-bundle patellar tendon versus non-anatomical double-bundle hamstrings ACL reconstruction: a prospective randomized study at 8-year minimum follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2011;19:390-397. doi: 310.1007/s00167-00010-01225-y. Epub 02010 Jul 00129.
92. Lee JH, Bae DK, Song SJ, Cho SM, Yoon KH. Comparison of clinical results and second-look arthroscopy findings after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction using 3 different types of grafts. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association* 2010;26:41-49.
93. Wright RW, Gill CS, Chen L, i sur. Outcome of revision anterior cruciate ligament reconstruction: a systematic review. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94:531-536. doi: 510.2106/JBJS.K.00733.

94. Wright RW, Huston LJ, Spindler KP, i sur. Descriptive epidemiology of the Multicenter ACL Revision Study (MARS) cohort. *Am J Sports Med* 2010;38:1979-1986. doi: 1910.1177/0363546510378645.
95. Effect of graft choice on the outcome of revision anterior cruciate ligament reconstruction in the Multicenter ACL Revision Study (MARS) Cohort. *Am J Sports Med* 2014;42:2301-2310. doi: 2310.1177/0363546514549005.
96. Blickenstaff KR, Grana WA, Egle D. Analysis of a semitendinosus autograft in a rabbit model. *Am J Sports Med* 1997;25:554-559.
97. Menetrey J, Duthon VB, Laumonier T, Fritschy D. "Biological failure" of the anterior cruciate ligament graft. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:224-231. doi: 210.1007/s00167-00007-00474-x. Epub 02008 Jan 00169.
98. Gianotti SM, Marshall SW, Hume PA, Bunt L. Incidence of anterior cruciate ligament injury and other knee ligament injuries: a national population-based study. *J Sci Med Sport* 2009;12:622-627. doi: 610.1016/j.jsams.2008.1007.1005. Epub 2008 Oct 1012.
99. Harvie P, Ostlere SJ, Teh J, i sur. Genetic influences in the aetiology of tears of the rotator cuff. Sibling risk of a full-thickness tear. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:696-700.
100. Prockop DJ. The synthesis of type I collagen fibers and potential inhibitors of the process. *Progress in clinical and biological research* 1984;154:81-88.
101. Bienkowski RS, Baum BJ, Crystal RG. Fibroblasts degrade newly synthesised collagen within the cell before secretion. *Nature* 1978;276:413-416.
102. Bailey AJ, Robins SP, Balian G. Biological significance of the intermolecular crosslinks of collagen. *Nature* 1974;251:105-109.
103. Gajko-Galicka A. Mutations in type I collagen genes resulting in osteogenesis imperfecta in humans. *Acta Biochim Pol* 2002;49:433-441.
104. Speer G, Szenthe P, Kosa JP, i sur. Myocardial infarction is associated with Sp1 binding site polymorphism of collagen type 1A1 gene. *Acta Cardiol* 2006;61:321-325.
105. Tilkeridis C, Bei T, Garantziotis S, Stratakis CA. Association of a COL1A1 polymorphism with lumbar disc disease in young military recruits. *J Med Genet* 2005;42:e44.
106. Skorupski P, Krol J, Starega J, Adamiak A, Jankiewicz K, Rechberger T. An alpha-1 chain of type I collagen Sp1-binding site polymorphism in women suffering from stress urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:346-350.
107. Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone* 2003;32:711-717.

108. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996;14:203-205.
109. Mann V, Hobson EE, Li B, i sur. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001;107:899-907.
110. Zimny ML, Schutte M, Dabezies E. Mechanoreceptors in the human anterior cruciate ligament. *The Anatomical record* 1986;214:204-209.
111. Zantop T, Petersen W, Sekiya JK, Musahl V, Fu FH. Anterior cruciate ligament anatomy and function relating to anatomical reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006;14:982-992.
112. Giuliani JR, Kilcoyne KG, Rue JP. Anterior cruciate ligament anatomy: a review of the anteromedial and posterolateral bundles. *The journal of knee surgery* 2009;22:148-154.
113. Noyes FR, Bassett RW, Grood ES, Butler DL. Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee. Incidence of anterior cruciate tears and other injuries. *The Journal of bone and joint surgery American volume* 1980;62:687-695, 757.
114. Hadjicostas PT, Soucacos PN, Koleganova N, Krohmer G, Berger I. Comparative and morphological analysis of commonly used autografts for anterior cruciate ligament reconstruction with the native ACL: an electron, microscopic and morphologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:1099-1107. doi: 10.1007/s00167-00008-00603-00161. Epub 02008 Sep 00127.
115. Handl M, Drzik M, Cerulli G, i sur. Reconstruction of the anterior cruciate ligament: dynamic strain evaluation of the graft. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007;15:233-241.
116. Ostrowski JA. Accuracy of 3 diagnostic tests for anterior cruciate ligament tears. *Journal of athletic training* 2006;41:120-121.
117. van Eck CF, van den Bekerom MP, Fu FH, Poolman RW, Kerkhoffs GM. Methods to diagnose acute anterior cruciate ligament rupture: a meta-analysis of physical examinations with and without anaesthesia. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2013;21:1895-1903.
118. Kocabey Y, Tetik O, Isbell WM, Atay OA, Johnson DL. The value of clinical examination versus magnetic resonance imaging in the diagnosis of meniscal tears and anterior cruciate ligament rupture. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery*

: official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association 2004;20:696-700.

119. Weiler A, Peine R, Pashmineh-Azar A, Abel C, Sudkamp NP, Hoffmann RF. Tendon healing in a bone tunnel. Part I: Biomechanical results after biodegradable interference fit fixation in a model of anterior cruciate ligament reconstruction in sheep. *Arthroscopy* 2002;18:113-123.

120. Smith PA, Stannard JP, Pfeiffer FM, Kuroki K, Bozynski CC, Cook JL. Suspensory Versus Interference Screw Fixation for Arthroscopic Anterior Cruciate Ligament Reconstruction in a Translational Large-Animal Model. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association* 2016.

121. Claes S, Verdonk P, Forsyth R, Bellemans J. The "ligamentization" process in anterior cruciate ligament reconstruction: what happens to the human graft? A systematic review of the literature. *The American journal of sports medicine* 2011;39:2476-2483.

122. Zaffagnini S, De Pasquale V, Marchesini Reggiani L, i sur. Electron microscopy of the remodelling process in hamstring tendon used as ACL graft. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18:1052-1058.

123. Papageorgiou CD, Ma CB, Abramowitch SD, Clineff TD, Woo SL. A multidisciplinary study of the healing of an intraarticular anterior cruciate ligament graft in a goat model. *The American journal of sports medicine* 2001;29:620-626.

124. Grana WA, Egle DM, Mahnken R, Goodhart CW. An analysis of autograft fixation after anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model. *Am J Sports Med* 1994;22:344-351.

125. Scheffler SU, Unterhauser FN, Weiler A. Graft remodeling and ligamentization after cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:834-842.

126. Unterhauser FN, Bail HJ, Hoher J, Haas NP, Weiler A. Endoligamentous revascularization of an anterior cruciate ligament graft. *Clinical orthopaedics and related research* 2003:276-288.

127. Weiler A, Peters G, Maurer J, Unterhauser FN, Sudkamp NP. Biomechanical properties and vascularity of an anterior cruciate ligament graft can be predicted by contrast-enhanced magnetic resonance imaging. A two-year study in sheep. *The American journal of sports medicine* 2001;29:751-761.

128. Tohyama H, Yasuda K. The effect of increased stress on the patellar tendon. *The Journal of bone and joint surgery British volume* 2002;84:440-446.
129. Salmon L, Russell V, Musgrove T, Pinczewski L, Refshauge K. Incidence and risk factors for graft rupture and contralateral rupture after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 2005;21:948-957.
130. Laboute E, Savalli L, Puig P, i sur. Analysis of return to competition and repeat rupture for 298 anterior cruciate ligament reconstructions with patellar or hamstring tendon autograft in sportspeople. *Ann Phys Rehabil Med* 2010;53:598-614. doi: 510.1016/j.rehab.2010.1010.1002. Epub 2010 Nov 1010.
131. Shelbourne KD, Gray T, Haro M. Incidence of subsequent injury to either knee within 5 years after anterior cruciate ligament reconstruction with patellar tendon autograft. *Am J Sports Med* 2009;37:246-251. doi: 210.1177/0363546508325665. Epub 0363546508322008 Dec 0363546508325624.
132. Snedeker JG, Gautieri A. The role of collagen crosslinks in ageing and diabetes - the good, the bad, and the ugly. *Muscles, ligaments and tendons journal* 2014;4:303-308.
133. Li Y, Fessel G, Georgiadis M, Snedeker JG. Advanced glycation end-products diminish tendon collagen fiber sliding. *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology* 2013;32:169-177.
134. Chantereau P, Brieu M, Kammal M, Farthmann J, Gabriel B, Cosson M. Mechanical properties of pelvic soft tissue of young women and impact of aging. *International urogynecology journal* 2014;25:1547-1553.
135. Paterno MV, Schmitt LC, Ford KR, i sur. Biomechanical measures during landing and postural stability predict second anterior cruciate ligament injury after anterior cruciate ligament reconstruction and return to sport. *The American journal of sports medicine* 2010;38:1968-1978.
136. Liu SH, Panossian V, al-Shaikh R, i sur. Morphology and matrix composition during early tendon to bone healing. *Clin Orthop Relat Res* 1997:253-260.
137. Rodeo SA, Arnoczky SP, Torzilli PA, Hidaka C, Warren RF. Tendon-healing in a bone tunnel. A biomechanical and histological study in the dog. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75:1795-1803.
138. Coleridge SD, Amis AA. A comparison of five tibial-fixation systems in hamstring-graft anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004;12:391-397.

139. Mouzopoulos G, Fotopoulos VC, Tzurbakis M. Septic knee arthritis following ACL reconstruction: a systematic review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009;17:1033-1042.
140. Ohly NE, Murray IR, Keating JF. Revision anterior cruciate ligament reconstruction: timing of surgery and the incidence of meniscal tears and degenerative change. *J Bone Joint Surg Br* 2007;89:1051-1054.
141. Iriuchishima T, Tajima G, Ingham SJ, Shen W, Smolinski P, Fu FH. Impingement pressure in the anatomical and nonanatomical anterior cruciate ligament reconstruction: a cadaver study. *Am J Sports Med* 2010;38:1611-1617. doi: 1610.1177/0363546510363461. Epub 0363546510362010 Apr 0363546510363421.
142. Maak TG, Bedi A, Raphael BS, i sur. Effect of femoral socket position on graft impingement after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 2011;39:1018-1023. doi: 1010.1177/0363546510395477. Epub 0363546510392011 Feb 0363546510395418.
143. Miller MD, Olszewski AD. Posterior tibial tunnel placement to avoid anterior cruciate ligament graft impingement by the intercondylar roof. An in vitro and in vivo study. *Am J Sports Med* 1997;25:818-822.
144. Muneta T, Yamamoto H, Ishibashi T, Asahina S, Murakami S, Furuya K. The effects of tibial tunnel placement and roofplasty on reconstructed anterior cruciate ligament knees. *Arthroscopy* 1995;11:57-62.
145. O'Brien SJ, Warren RF, Pavlov H, Panariello R, Wickiewicz TL. Reconstruction of the chronically insufficient anterior cruciate ligament with the central third of the patellar ligament. *J Bone Joint Surg Am* 1991;73:278-286.
146. Zantop T, Schumacher T, Diermann N, Schanz S, Raschke MJ, Petersen W. Anterolateral rotational knee instability: role of posterolateral structures. Winner of the AGA-DonJoy Award 2006. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007;127:743-752. Epub 2006 Oct 2028.
147. Posthumus M, September AV, Schwellnus MP, Collins M. Investigation of the Sp1-binding site polymorphism within the COL1A1 gene in participants with Achilles tendon injuries and controls. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia* 2009;12:184-189.
148. Collins M, Posthumus M, Schwellnus MP. The COL1A1 gene and acute soft tissue ruptures. *British journal of sports medicine* 2010;44:1063-1064.

149. Sezer S, Simsek N, Celik HT, i sur. Association of collagen type I alpha 1 gene polymorphism with inguinal hernia. *Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery* 2014;18:507-512.
150. Skorupski P, Krol J, Starega J, Adamiak A, Jankiewicz K, Rechberger T. An alpha-1 chain of type I collagen Sp1-binding site polymorphism in women suffering from stress urinary incontinence. *American journal of obstetrics and gynecology* 2006;194:346-350.
151. Han S, McBride DJ, Losert W, Leikin S. Segregation of type I collagen homo- and heterotrimers in fibrils. *Journal of molecular biology* 2008;383:122-132.
152. Misof K, Landis WJ, Klaushofer K, Fratzl P. Collagen from the osteogenesis imperfecta mouse model (oim) shows reduced resistance against tensile stress. *The Journal of clinical investigation* 1997;100:40-45.
153. Narayanan AS, Meyers DF, Page RC, Welgus HG. Action of mammalian collagenases on type I trimer collagen. *Collagen and related research* 1984;4:289-296.
154. Phillips CL, Pfeiffer BJ, Luger AM, Franklin CL. Novel collagen glomerulopathy in a homotrimeric type I collagen mouse (oim). *Kidney international* 2002;62:383-391.
155. Khoschnau S, Melhus H, Jacobson A, i sur. Type I collagen alpha1 Sp1 polymorphism and the risk of cruciate ligament ruptures or shoulder dislocations. *The American journal of sports medicine* 2008;36:2432-2436.
156. Stepień-Słodkowska M, Ficek K, Eider J, i sur. The +1245g/t polymorphisms in the collagen type I alpha 1 (coll1a1) gene in polish skiers with anterior cruciate ligament injury. *Biology of sport* 2013;30:57-60.
157. Stepień-Słodkowska M, Ficek K, Zietek P, i sur. Whether the Combination of COL1A1 Gene Polymorphisms may be a Marker of the Risk of Injury? *Journal of sport rehabilitation* 2016.
158. Wiggins AJ, Grandhi RK, Schneider DK, Stanfield D, Webster KE, Myer GD. Risk of Secondary Injury in Younger Athletes After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Systematic Review and Meta-analysis. *The American journal of sports medicine* 2016.
159. Maffulli N, Margiotti K, Longo UG, Loppini M, Fazio VM, Denaro V. The genetics of sports injuries and athletic performance. *Muscles, ligaments and tendons journal* 2013;3:173-

11. ŽIVOTOPIS

Zovem se Bojan Dojčinović, rođen sam 9.10.1976.g. u Karlovcu gdje sam završio osnovnu školu i opću gimnaziju. Po završetku gimnazije 1995.g. upisujem Medicinski fakultet u Zagrebu gdje sam diplomirao 2001.g., u roku, s prosjekom ocjena 4,4. Pripravnički sam staž obavio u KB Merkur, a tijekom 2003.g. sam se nakon završenog pripravničkog staža, zaposlio u Zavodu za hitnu medicinu grada Zagreba. Krajem 2003.g. sam započeo sa specijalizacijom iz opće kirurgije u Kliničkoj bolnici Dubrava u Zagrebu.

Nakon položenog specijalističkog ispita iz opće kirurgije 2008.g. sam radio kao odjelni liječnik na zavodu za traumatologiju. 2010.g. sam započeo sa subspecijalizacijom iz traumatologije tijekom koje sam proveo dio edukacije na Zavodu za ortopediju Kliničke bolnice Sveti duh. Od 2012.g. nakon položenog subspecijalističkog ispita iz traumatologije radim kao odjelni liječnik na Zavodu za traumatologiju i ortopediju.

Aktivno sam sudjelovao na domaćim i svjetskim kongresima te sam pohađao brojne domaće i inozemne tečajeve operativnih tehnika iz područja koštano zglobne kirurgije. Autor sam više članaka objavljenih u časopisima indeksiranim u Current Contents. Član sam SICOT-a (Societe International de Chirurgiae Orthopedique et de Traumatologie), HDSTA (Hrvatsko društvo za sportsku traumatologiju Hrvatskog liječničkog zbora) i ESSKA (European Society for Sports Traumatology, Knee Surgery and Arthroscopy).