

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

**PRİMER DİZ OSTEOARTRİTLİ HASTALARDA COLL11A1, VEGF, GDF5
PROTEİN GENLERİNİN POLİMORFİZİMİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. KÖKSAL GÜNDOĞDU**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEMİH AKKAYA**

DENİZLİ - 2016

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

**PRİMER DİZ OSTEOARTRİTLİ HASTALARDA COLL11A1, VEGF,
GDF5 PROTEİN GENLERİNİN POLİMORFİZİMİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. KÖKSAL GÜNDOĞDU**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEMİH AKKAYA**

**Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi'nin 21.07.2015 tarih ve 2015TPF029 nolu
kararı ile desteklenmiştir.**

DENİZLİ - 2016

Doç. Dr. Semih AKKAYA danışmanlığında Dr. KÖKSAL GÜNDOĞDU tarafından yapılan “Primer Diz Osteoartritli Hastalarda Coll11a1, Vegf, Gdf5Protein Genlerinin Polimorfizimin İncelenmesi. ” başlıklı tez çalışması gün 13/04/2016 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ.Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

**Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.
gün.../ay..../yl.**

Prof. Dr.

.....

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

BaŐta tez danıŐmanım sayın Doç. Dr. Semih AKKAYA olmak üzere her birinin eğitimime sonsuz katkısı bulunan Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalında görevli öğretim üyeleri Prof. Dr. Fahir DEMİRKAN, Prof. Dr. Esat KITER, Doç .Dr. Murat OTO, Yrd. Doç. Dr. Alp AKMAN, Yrd. Doç. Dr. Harun ReŐit GÜNGÖR, Yrd. Doç. Dr. Nusret ÖK, Yrd. Doç. Dr. Ali ÇađdaŐ YÖRÜKOğLU'na tezimin her aŐamasında emeği geçen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yavuz DODURGA'ya, bana yardımlarımı esirgemeyen Fizik Tedavi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nuray Akkaya'ya, tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan sevgili eŐim Yrd.Doç.Dr.GülŐah GÜNDOğDU'ya ve yaşama sevincim kızım Yağmur'a, asistan arkadaşlarım ve yardımcı sağlık personeline ve de benim bugünlere gelmemde en büyük emek sahibi olan, her türlü desteklerini hiç eksik etmeyen canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Köksal GÜNDOğDU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
ÖZET	XII
İNGİLİZCE ÖZET	XIII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
DİZ ANATOMİSİ	3
Kemik Yapılar	3
<i>Femur</i>	3
<i>Tibia</i>	3
<i>Patella</i>	3
Eklem Kapsülü	3
Diz Eklemine Ligamentleri	4
<i>Eklem İnttrakapsüler Ligamentleri (İç Bağları)</i>	4
<i>Ligamentum Krusiyatum Anterior (Ön Çapraz Bağ)</i>	4
<i>Ligamentum Krusiyatum Posterior (Arka Çapraz Bağ)</i>	4
<i>Eklem ekstrakapsüler ligamentleri (dış bağları)</i>	4
<i>Ligamentum Patella (Patellar Ligaman)</i>	4
<i>Ligamentum Kollaterale Fibulare (Lateral Kollateral Ligaman)</i> ..	4
<i>Ligamentum Kollaterale Tibiale (Medial Kollateral Ligaman)</i> ...	4
<i>Ligamentum Popliteum Oblikum</i>	5
<i>Ligamentum Popliteum Arkuatum</i>	5
Kaslar ve Diz Kinezyolojisi.....	5
<i>Fleksör kaslar</i>	5
<i>Ekstansör Kaslar</i>	6

<i>Rotasyon Yaptıran Kaslar</i>	6
<i>Menisküsler</i>	6
Diz Eklemının Bursaları	7
DİZ EKLEM KIKIRDAĞI	7
SNOVİYAL DOKU	10
OSTEOARTRİT	10
Risk Faktörleri	10
<i>Yaş</i>	10
<i>Cinsiyet</i>	11
<i>Obezite</i>	11
<i>Lokal Mekanik Faktörler</i>	11
<i>Spor ve Fiziksel Aktiviteler</i>	11
<i>Kas Güçsüzlüğü</i>	11
<i>Genetik Faktörler</i>	12
<i>Osteoartritin Kalıtımsal Kanıtı</i>	12
<i>İkiz Aile Çalışmaları</i>	12
Patogenez	13
Sınıflandırma	16
DİZ OSTEOARTRİTİ (GONARTROZ)	17
Klinik Belirti ve Bulgular	18
Labaratuar Bulguları	18
Radyolojik Bulgular	19
Tanı Kriterleri	20
Klinik ve Radyolojik Tanı Kriterleri	20
Osteoartritin Tedavisi	20
POLİMORFİZM	22
OSTEOARTRİT KALITIMINDA ADAY GENLER	22
COLL11A1	22
VEGF	23
PDF5	24
GEREÇ VE YÖNTEMLER	26
HASTA SEÇİMİ	26

RADYOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	26
GENETİK VE BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER.....	27
Periferik kandan DNA izolasyonu	27
Polimeraz zincir Tepkimesi (PCR).....	28
PCR Ürünlerinin Saflaştırılması.....	28
Döngüsel Dizileme Tepkimesi (Cycle Sequencing).....	29
Etanol/EDTA/Sodyum Asetat ile Çöktürme.....	30
Otomatik Dizi Analizi Cihazına Yükleme.....	30
İstatistiksel Analiz.....	30
BULGULAR	32
TARTIŞMA	40
SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

OA	:	Osteoartrit
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
IL-1	:	İnterlökin 1
IGF-1	:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü- 1
HA	:	Hyalüronik Asit
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
TNF-α	:	Tümör Nekrotizan Faktör- α
NO	:	Nitrik Oksit
MMP	:	Metalloproteinaz
TIMP	:	Tissue İnhibitors of Metalloproteinaz
PGE2	:	Prostaglandin E 2
O2-	:	Süperoksit Anyonu
ONOO-	:	PeroksiNitrit
OH-	:	Hidroksil Radikali
H2O2	:	Hidrojen Peroksit
CRP	:	C-Reaktif Protein
RF	:	Romatoid Artrit
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi
MRI	:	Manyetik Rezonans
EULAR	:	Avrupa Romatizma Birliği
ACR	:	Amerikan Romatoloji Koleji
NSAİİ	:	Nonsteroidal Antienflematuar İlaç
SAMe	:	S-Adenozil Metionin
Lef-1	:	Lymphocyte Enhancer-Binding Factor-1
VEGF	:	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
COLL11A1	:	Collogen Type XI Alfa 1
VPF	:	Vasküler Permeabilite Faktörü
vWf	:	V-Willebrand Faktör
PGI2	:	Prostosiklin
PGF	:	Plasenta Büyüme Faktörü

GDF5	:	Büyüme Farklılaşım Faktörü 5
PCR	:	Polimeraz Zincir Tepkimesi
NaOAc	:	Sodyum Asetat
EDTA	:	EtilendiaminTetraasetikAsit
BMP	:	Kemik Morfojenik Protein
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1: Diz eklemindeki bağların önden ve arkadan görünümü.....	5
Şekil 2:İç ve dış menisküsün temel yapıları ve bağlar ile ilişkisi.....	7
Şekil 3: Diz eklemi kırırdağı histolojik yapısı	8
Şekil 4:Hücre dışı ağı proteoglikan agregatı	9
Şekil 5: OA'nın moleküler patogenezi	16
Şekil 6: Coll11A1 Gen haritası.....	23
Şekil 7:GDF-5 gen haritası	25

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: OA patogenezi.	14
Tablo 2: Osteoartritin sınıflandırması.	17
Tablo 3: Kellgren-Lawrance skalası.	19
Tablo 4: <i>VEGF</i> Ailesi.....	24
Tablo 5: Kullanılan kimyasal maddeler	29
Tablo 6: Hastaların demografik özellikleri.	32
Tablo 7: <i>COLL11A1</i> geninin rs 4907986 ve rs1241164 polimorfizm dağılımı(hasta sayısı- %).	32
Tablo 8: <i>COLL11A1</i> geninin rs 4907986 ve rs1241164 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı dağılımı(hasta sayısı- %).	34
Tablo 9: <i>VEGF</i> geninin rs833058 polimorfizm dağılımı (hasta sayısı- %)	35
Tablo 10: <i>VEGF</i> geninin rs833058 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı(hasta sayısı- %).	36
Tablo 11: <i>GDF5</i> geninin rs143383 polimorfizm dağılımı (hasta sayısı- %) ...	37
Tablo 12: <i>GDF5</i> geninin rs143383 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı (hasta sayısı- %)	38

ÖZET

PRİMER DİZ OSTEOARTRİTLİ HASTALARDA *COLL11A1*, *VEGF*, *GDF5* PROTEİN GENLERİNİN POLİMORFİZİMİN İNCELENMESİ

Dr. Köksal GÜNDOĞDU

Osteoartrit (OA) kronik ağrı ,eklem instabilitesi,eklem aralığında daralma ile karakterize degeneratif bir eklem hastalığıdır. Kıkırdak degenerasyonu ,subkondral kemik sklerozu ve osteofit oluşumu OA de görülen en yaygın bulgulardır.OA'ın yaşam süresinin uzaması ve obeziteyle birlikte görülme sıklığı giderek artmaktadır.En sık görüldüğü yer diz eklemidir. OA tanısında direk grafi en sık kullanılan yöntem olmasına rağmen ,aynı zamanda genetik faktörlerde tanısal değere sahip olabilir.Çalışmamızda,diz OA patogenezinde *COLL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizmi, *VEGF* geninin rs833058 polimorfizmi, *GDF5* geninin rs143383 polimorfizminin etkileri değerlendirildi.Çalışmamızda PAU Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Polikliniğine başvuran primer osteoartrit nedeniyle ameliyat ettiğimiz 100 hasta grubu ve OA'i olmayan 100 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi.Hastaların ve kontrol grubunun diz grafileri degerlendirildi. Her iki gruptan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu ve PCR ile genlerin polimorfizmi degerlendirildi.Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri (yaş, cinsiyet, VKİ) incelendi ve gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamadı. *COLL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizmi, *VEGF* geninin rs833058 polimorfizmi, *GDF5* geninin rs143383 polimorfizmi hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı.

ANAHTAR KELİMELER: Osteoartrit,,Polimorfizm, *COLL11A1*, *VEGF*, *GDF5*

ABSTRACT

EVALUATION OF POLYMORPHISM OF COLL11A1, VEGF, AND GDF5 PROTEIN GENES IN PATIENTS WITH PRIMARY KNEE OSTEOARTHRITIS

Dr. Köksal GÜNDOĞDU

Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disease characterized with narrowing of joint space, chronic pain and joint instability. Cartilage degeneration, subchondral bone sclerosis and formation of osteophytes are common findings seen in osteoarthritis. The prevalence of OA is increasing along with increased obesity and life expectancy. Osteoarthritis is most commonly encountered in the knee joint. Although plain radiography is the most commonly utilized method to diagnose OA, genetic predictors may also have a diagnostic value. In our study, effects of rs4907986 and rs1241164 polymorphism of COLL11A1 gene, rs833058 polymorphism of VEGF gene, and rs143383 polymorphism of GDF-5 gene on pathogenesis of knee osteoarthritis were evaluated. One hundred patients operated due to primary knee osteoarthritis in Pamukkale University Medical Faculty, Orthopedics and Traumatology clinics were included in the study. One hundred volunteers without signs of osteoarthritis were assigned as a control group. Knee radiography of the patients and the control group were evaluated. Blood samples were collected from both groups, and gene polymorphism evaluations were performed by means of DNA isolation and PCR. Demographic and clinical characteristics of the patients and the control group (age, sex, BMI) were studied and there was no statistically significant difference between the groups in terms of these parameters. There was no statistically significant difference between in terms of rs4907986 rs1241164 polymorphism of COLL11A1, rs833058 polymorphism of VEGF, and rs143383 polymorphism of GDF-5.

KEYWORDS: Osteoarthritis, Polymorphism, *COLL11A1*, *VEGF*, *GDF5*

GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoartrit (OA) kronik ağrı ,eklem instabilitesi ve sertliğini içeren klinik bulgular ve radyolojik olarak eklem aralığında daralma ile karakterizedegeneratif bir eklem hastalığıdır ve patogenezinde eklem kıkırdak degenerasyonu ,subkondral kemik sklerozu ve osteofit oluşumu görülür (1).

Eklem ağrısı, eklem hareketlerinde kısıtlanma gibi fonksiyon kaybına yol açan bu hastalık nedeniyle, her yıl çok sayıda hasta doktora başvurmakta ve çeşitli tedavi yöntemleriyle hastalık tedavi edilmeye çalışılmaktadır (2).

OA artritinin en yaygın formudur ve yaşlılarda hareket kısıtlılığının önde gelen nedenlerindedir.Amerika Birleşik Devletleri'nde erişkin popülasyonun %25'inin veya >50 milyon kişinin 2020 yılına kadar OA'den etkileneceği ve 40 yaşın üzerindeki kişilerde morbidite ve fiziksel kısıtlılığın önde gelen nedenlerinden olacağı tahmin edilmektedir. OA fiziksel fonksiyonları etkileyerek yaşam kalitesi, depresyon ve anksiyete üzerine olan etkileri ile 2008 yılında 185 milyar doların üzerinde tıbbi harcama içeren önemli bir mali sorun oluşturmuştur (3).

OA'in etyolojisi ve patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Genetik,metabolik,biyokimyasal ve biyomekanik faktörlerin yıkım zincirini başlattığı ve kartilaj hasarına neden olarak OA'e neden olabileceği bilinmektedir. Toplumdaki sıklığı, ortalama yaşam süresinin uzaması ve obezite insidansının artması gibi nedenlerle giderek artmaktadır.Gelişmiş ülkelerde OA, fiziksel özürülülüğün önemli nedenlerindedir. Sağlık harcamalarının artmasına ve hayat kalitesinin düşmesine neden olmaktadır (4).

OA'in primer olarak en sık görüldüğü yer diz eklemidir. Hastalığın patogenezinde Serbest oksijen radikalleri (SOR) önemli rol oynamaktadır. Bu toksik ürünler kıkırdak matriks yıkımına, kondrosit apoptozuna ve sinovyal inflamasyona neden olur. Sonuçta eklem kıkırdağında kayıp ve sinovyal sıvı viskozitesinde azalma görülür (5).

OA' de eklem hasarını değerlendirmek için en çok kullanılan yöntem eklem aralığını direk grafi ile değerlendirmektir. Ancak direkt grafilere bulgular geç ortaya çıktığından, OA' da erken tanı amacıyla direkt grafilere daha duyarlı araçlara ihtiyaç vardır. Günümüzde bu amaçla magnetik rezonans görüntüleme kullanılabilirlikle birlikte; bazı biyokimyasal belirleyicilerinde OA tanısında yararlı olabileceği düşünölmektedir(6). Aynı zamanda yapılan epidemiyolojik ve genetik araştırmalar, genetik faktörlerin osteoartritte önemli rolü olduğunu göstermiştir. OA ile ilişkili genlerin kimliklendirilmesi, altta yatan moleküler mekanizma ve yolların ortaya çıkmasını sağlayacak, osteoartrit riski olan bireylerin belirlenmesinde, koruma da ve belkide hedeflenen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yol gösterici olabilecektir.

Çalışmamızda, son yıllarda artrit patogenezindeki etkisi araştırılan *COL11A1*, *VEGF*, *GDF5* genleriesas alınmış ve diz OA'inin radyoloji ve klinik ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu araştırılan genlerdeki polimorfizminin varlığı riskli hasta grubunu saptamada ve hedeflenen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yol gösterici olacaktır.

Bu çalışmada hastanemiz PAU Tıp Fakóltesi Ortopedi ve Travmatoloji Polikliniğine diz ağrısı nedeniyle başvuran primer osteoartriti olan hastalar ve primer osteoartrit nedeniyle ameliyat ettiğimiz hastalarda *COL11A1*, *VEGF*, *GDF5* gen polimorfizmi arasındaki ilişki değerlendirilecektir.

GENEL BİLGİLER

DİZİN ANATOMİSİ

Diz eklemi vücudunun en büyük eklemidir. Diz eklemi üç eklemin birleşiminden oluşur. Bunlar femur ve tibia kondilleri arasındaki medial tibiofemoral ve lateraltibiofemoral eklemler ile patella ve femur arasındaki patello-femoral eklemlerdir (7).Menteşe (ginglimus) tipi bir eklemdir. Mentşe tipli eklem olmasının yanında eklem yüzleri tek bir eksen etrafında sadece fleksiyon ve ekstansiyonyapabilirken diz ekleminde bacak fleksiyon durumuna getirilirse bacağına bir miktarrotasyon hareketi de yaptırılabilir. Bu yönüyle diz eklemi diğer menteşe tiplieklemlerden farklıdır (7).

Kemik Yapılar

Femur: Femurun alt yüzeyinde tibia ile eklemleşen ve interkondiler fossa ile ayrılanmedial ve lateral femoral kondiller yer alır. Medial femoral kondil, antero-posteriorda lateral femoral kondilden daha kısadır ayrıca lateral kondil transvers planda daha geniştir. Lateral kondilinkonveksitesi medial kondilden daha fazladır (7).

Tibia: Tibial eklem yüzü, lateral ve medial kondiller ile bunları birbirindenayırantinterkondiler fossadan oluşur. Medial eklem yüzü daha büyük ve daha konkavdır.Lateral eklem yüzü ise daha küçük ve hafif konvektir (7).

Patella: Patellar tendon ve kuadriseps tendonu arasında yer alan vücudun en büyüksesamoid kemiğidir. Diz ekstansiyonda iken patellar yüze binen yük en azdır.Fleksiyonun artması ile bu yük artar. Diz fleksiyonda iken patellofemoral ekleme binenyük, vücut ağırlığının 7-8 katına çıkabilir (8).

Eklem Kapsülü

Femur distal ucu ve tibia proksimal ucuna tutunan, önde patellayı çevreleyen birkapsüldür. Bazı tendon ve bağların yapısına katılmasıyla daha da güçlenmiş bir yapıdır (7).

Diz Eklemine Ligamentleri

Eklem İtrakapsüler Ligamentleri (İç Bağları):

Diz eklemine en önemli intrakapsüler ligamentleri ligamentum krusiyatum anterior veligamentum krusiyatum posteriodur. Eklem içinde bulunan diğer bağlar ise şunlardır:Anterior ve posterior meniskofemoral ligament, koronar ligament, ligamentumtransversum genus, popliteus tendonu, tibiomeniskal ligamandır.

Ligamentum Krusiyatum Anterior (Ön Çapraz Bağ);Tibianın area interkondilarisanterioru ile femurun lateral kondilinin posteromedialine uzanır(Şekil 1). Primer fonksiyonutibianın femur üzerinde öne deplasmanını engellemektir.

Ligamentum Krusiyatum Posterior (Arka Çapraz Bağ);Medial femoral kondilin içyüzünden başlayıp, tibia intraartiküler üst yüzeyin arkasına yapışır (Şekil 1). Primerfonksiyonu tibianın arkaya deplasmanını engellemektir.

Eklem ekstrakapsüler ligamentleri (dış bağları):Diz eklemine beş adet ekstra kapsüler ligamenti bulunur. Bunlar ligamentum patella,ligamentum kollaterale fibulare, ligamentum kollaterale tibiale, ligamentum popliteumoblikum ve ligamentum popliteum arkuatumdur (Şekil 1)

Ligamentum Patella (Patellar Ligaman);M. quadriseps femoris'in orta bölümünün tendonunun patelladan tuberositas tibiaya kadar olan devamıdır.Eklem stabilitesindeki rolü çok önemlidir.

Ligamentum Kollaterale Fibulare (Lateral Kollateral Ligaman);Yuvarlak bir şerithalinde sağlam bir bağdır. Femurun lateral epikondili ile kaput fibula arasında uzanır (Şekil 1). Lateral kollateral ligaman, tüm fleksiyon derecelerinde varus zorlanmalarınakarşı stabilizeyi sağlayan en önemli yapıdır. Lateral menisküs ile direkt bağlantısı bulunmaz (9).

Ligamentum Kollaterale Tibiale (Medial Kollateral Ligaman);femurun medial epikondili ile tibianın medial kondili arasında uzanır (Şekil 1). Medial menisküs ilebağlantısı klinik açıdan önemlidir. Diz eklemine, özellikle dış taraftan gelen

direkttravmalar sonucunda aşırı gerilmeye bağlı olarak en sık zedelenen bağ ligamentumkollaterale tibiale dir.

Ligamentum Popliteum Oblikum;M.semimembranosus’ un tendonunun devamı olup, tibianın lateral kondili ile linea interkondilaris ve femurun lateral epikondili arasında uzanır (Şekil 1).

Ligamentum Popliteum Arkuatum;Y harfi şeklinde olan bu bağ kaput fibula,tibianın area interkondilaris posterioru ve femurun epikondilis lateralis i arasında uzanır.Fibröz kapsülü arkadan destekler (10).



Şekil 1: Diz eklemindeki bağların önden ve arkadan görünümü (7).

Kaslar ve Diz Kinezyolojisi

Fleksör kaslar

Hamstring grubu kaslar; uyluğun arka tarafında bulunan kaslardır. M.semitendinosus,m.semimembranosus ve m. biceps femoris kaslarına “hamstring grubu kaslar” adı verilir (7). Bu kaslardan biceps femorisin kısa başı dışında tümü n.

tibialis tarafından innerve edilir. M. biceps femorisin kısa başı ise n. peroneus communis tarafından innerve edilir (10).

M.sartorius; Kalça ve dize fleksiyon, ayrıca kalçaya abduksiyon ve dış rotasyon yaptırır. N.femoralis tarafından innerve edilir (10).

M.gastroknemius; Ayağın plantar fleksörüdür. Ayrıca dize fleksiyon yaptırır (10).

Ekstansör Kaslar

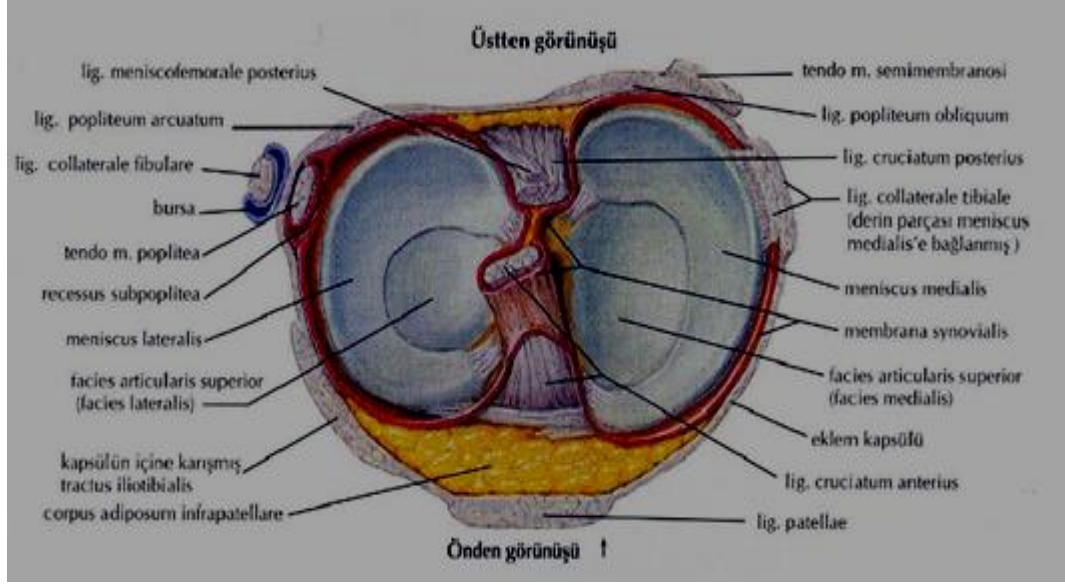
M. kuadriseps femoris; M. vastus medialis, m. vastus lateralis, m.vastus intermedius ve m.rektus femoris adlı dört kastan oluşur. Diz ekleminin en önemli ekstansör kasıdır (7).N. femoralis tarafından innerve edilir. Tensor fascia lata da ekstansiyona katkıda bulunur.

Rotasyon Yaptıran Kaslar

Diz eklemindeki rotasyon hareketi, fleksiyon ve ekstansiyona göre çok daha küçük bir eklemler hareket açıklığında gerçekleşir. M. popliteus, m. semimembranosus ve m.semitendinosus diz fleksiyonda iken bacağı iç rotasyon yaptırırlar. M. sartorius ve m.gracilis yardım eder. M. biceps femoris, m. tensor fascia lata ve m. popliteus diz fleksiyonda iken bacağı dış rotasyonu yaptırır (9).

Menisküsler

Menisküsler, medial ve lateral tibiofemoral eklem bölgelerinde, tibia ve femur eklemlerinin arasında yer alan, yük aktarımı ve şok absorpsiyonu görevi yapan yarım daire şeklinde fibrokartilaj yapılarıdır (8). Medial ve lateral olmak üzere iki adet menisküs bulunur (Şekil 2). Her iki menisküsü önde birbirine bağlayan “Ligamentum Transversum Genu” bulunur. Periferik kısımları kalın ve konvektir, içe doğru gittikçe incilir (11,12). Her iki menisküste tibianın eklem yüzeyinin yaklaşık olarak 2/3’ ünü kaplamaktadır. Basınça direnç gösterecek şekilde yoğun, sıkı örgü şeklinde kollajen lifleri bulunan elastik yapılarıdır. Medial menisküs, eklem kapsülü ile çok sıkı bağlantı göstermektedir. Sıkı yapışmadan dolayı medial menisküs daha az hareketlidir ve bu yüzden sık yaralanır. Lateral menisküs, dış yan bağ ile bağlantı göstermez. Lateral menisküs daha hareketlidir ve bu nedenle daha az yaralanır.



Şekil 2: İç ve dış menisküsün temel yapıları ve bağlar ile ilişkisi (7).

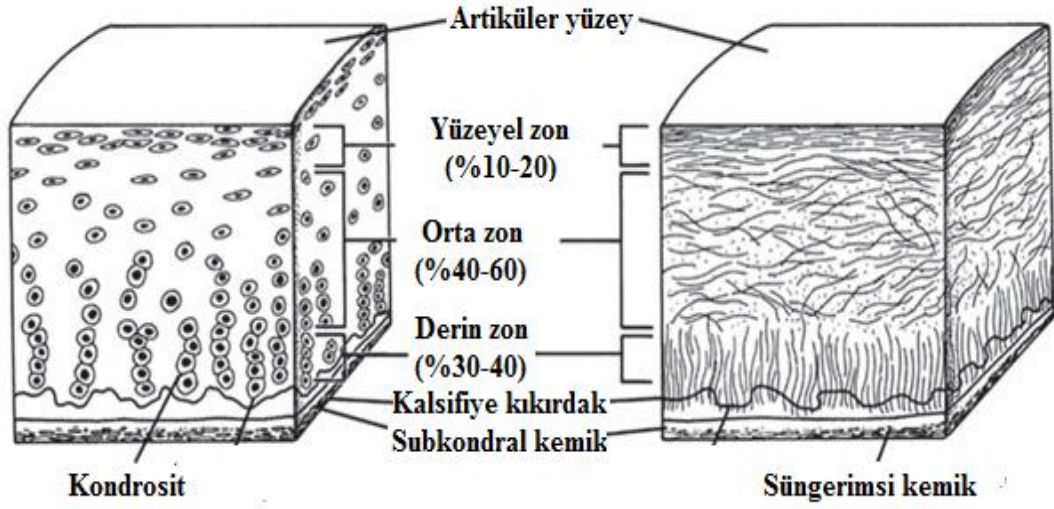
Diz Eklemine Bursaları

Bursalar; kemik ve tendonların arasında bulunan sürtünmeyi önlerler, aynı zamanda eklemi travmalara karşı koruma fonksiyonları da mevcuttur. Diz eklemi çevresinde, eklem aralığı ile ilişkili olan ve olmayan çok sayıda bursa vardır (7)

DİZ EKLEMİNİN KIKIRDAĞI

Kalınlığı eklem yerine göre 1-6 mm arasında değişen ve bağ doku yapısında olan eklem kıkırdağı kemiğe sıkıca yapışmıştır. Eklem yüzlerinin birbirini üzerinde hareketinden sorumludur. Makroskopik olarak parlak mavi görünümde olan kıkırdak yaş ilerledikçe sarı ve mat bir görünüm alır. Görevi yük taşımak ve temas yüzeyi sağlamaktır. Eklem kıkırdağı sinir, damar ve lenfatik doku içermez (13,14,15). Eklem kıkırdağının beslenmesi çift difüzyon sistemi ile olur. Önce sinoviyal dokudan, sinoviyal sıvıya difüzyon olur. Ardından kıkırdak membran üzerindeki porlardan geçilerek kondrositlere ulaşacak şekilde bir difüzyon olur.

Eklem kıkırdağı histolojik olarak, ekstrasellüler matris ve matris içinde değişik durumdaki kıkırdak hücrelerinden meydana gelir. Kıkırdak hacminin yaklaşık % 1'ini kondrositler oluşturur. Kıkırdağın kalan büyük bir bölümünü ise hücre dışı matris oluşturmaktadır (2). (Şekil 3)



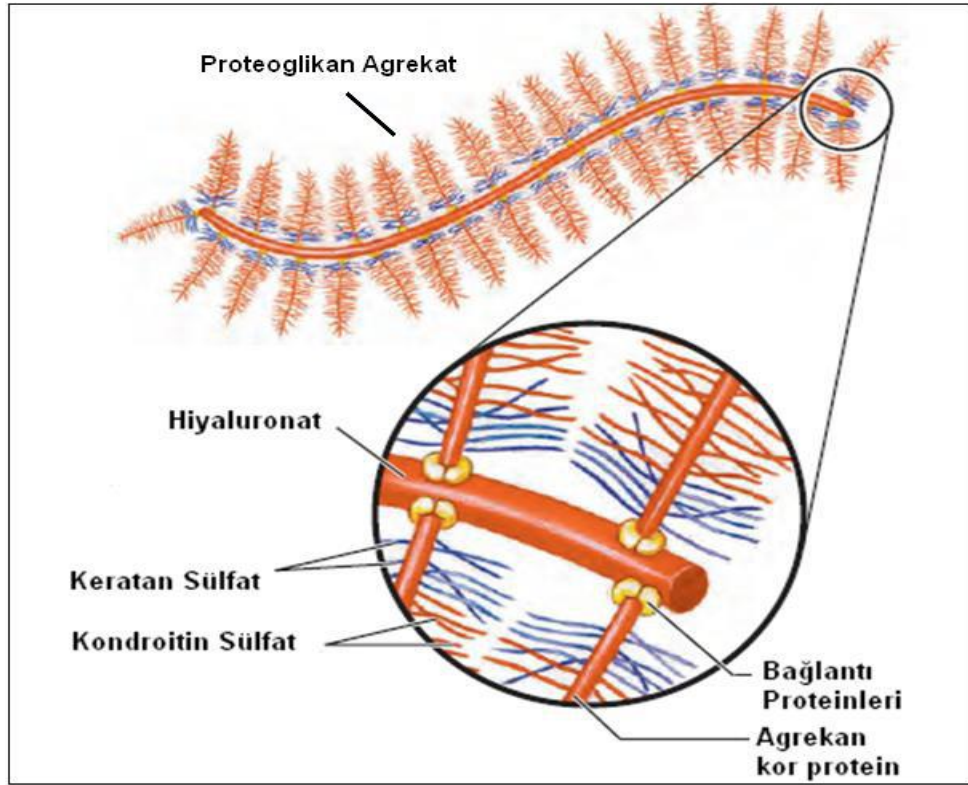
Şekil 3. Diz eklemi kıkırdağı histolojik yapısı (14).

Kondrositler yaşam boyunca matris makromoleküllerini yıkar ve yeniden sentezler. Yapım ve yıkım arasındaki dengeyi düzenleyen mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Ancak katabolik ve anabolik etkili sitokinlerin rolü olduğu düşünülmektedir. İnterlökin-1 (IL-1), matris makromoleküllerini yıkan metalloproteinazları indükler ve sentezi engeller. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve insülin benzeri büyüme faktörü-β (IGF-β) ise matris sentezini ve hücre proliferasyonunu tetikleyerek yıkımı engeller (16).

Kıkırdak matrisi su ve makromoleküllerden (kollajen, proteoglikan, non-kollajenöz proteinler, glikoprotein gibi) meydana gelir. Kıkırdağın yaklaşık % 80'i sudur. Su, kartilaj boyunca homojen dağılmayıp; yüzeyde % 80, derin zonda % 65 oranındadır. Eklem yük binmesi ile bu su sinovyal sıvıya geçer, yükün geri kalkmasıyla su geri döner. Fizyolojik şartlarda eklem kıkırdağı normal kalınlığının % 40'ına ininceye kadar sıkıştırılabilir.

Eklem kıkırdağının ana ekstrasellüler matris elemanı kollajendir. Kollajenin % 90-95'i tip II dir. Kollajenler değişken yoğunluk ve yönlendimlerle hücre dışı ağırlık üç boyutlu ağırlık örgüsünü yaparlar, eklem kıkırdağına gerim(*tensile*) gücü ve esneklik sağlarlar (17). Kollajen liflerinin arasında proteoglikanlar bulunur. Kıkırdağın kuru ağırlığının % 5-10'unu oluşturur. Proteoglikanlar karmaşık yapılı

makromoleküllerdir ve bir çekirdek proteine bağlanmış glikozaminoglikanlardan oluşur. Kıkırdakta bulunan glikozaminoglikanlar; hiyolonik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfat ve dermatan sülfattır (Şekil 4). Proteoglikanlar kıkırdaktaki sıvı akımına karşı direnç gösterirler. Bu nedenle hidrolik permeabilite, yani kıkırdağın esnekliği dokunun su ve proteoglikan içeriğine bağlıdır (2). Proteoglikanlar yapılarındaki yüksek negatif yüklerle su ve katyonları tutarak eklem kıkırdağında şişme basıncının oluşmasını sağlarlar. Yük altında eklem kıkırdağı hücre dışı ağından eklem aralığına ve hücrelerarası alana su çıkışı olur. Oluşan osmotik basınç yükün dengeli dağıtılmasını sağlar ve böylelikle eklem kıkırdağı hasar görmez (18).



Şekil 4. Hücre dışı ağın proteoglikan agregatı(18).

OA'de, başlangıçta kıkırdakta meydana gelen değişiklikler proteoglikan ve tip II kollajenin yıkımıdır. Kıkırdak proteoglikanların kaybına bağlı olarak yumuşar ve direnci azalır, kollajen doku yıkımına bağlı ise düzensizleşir ve vertikal yönde yırtılır. Açığa çıkan yıkım ürünleri nedeniyle non-spesifik hafif seyirli sinovit gelişebilir(5).

SİNOVYAL DOKU

Vücutta bulunan en büyük sinovyal boşluk diz ekleminde. Damardan zengin bir bağ dokusu olan sinovya, eklem içi sinovyal sıvının oluşumundan sorumludur. Sinovyal sıvı içerisinde bulunan yüksek molekül ağırlıklı hyalüronik asit (HA) eklem lubrikasyonunda (yağlanma) rol oynar ve sinovyal sıvının viskozitesinden sorumludur. OA'de en önemli değişiklik sinovyal sıvının viskozitesindeki azalmaya bağlı eklemde lubrikasyon etkinin azalmasıdır. Lubrikasyonun azalması da eklem kıkırdağının aşınmasına ve dejenerasyonuna neden olur (16).

OSTEOARTRİT

OA dünyada en yaygın görülen artrit formudur. OA, primer olarak geriatric popülasyonda görülen eklem kıkırdağında erozyon, eklem kenarındaki kemiklerde osteofitik hipertrofi, subkondral skleroz, sinovyal membran ve eklem kapsülünde bir dizi biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere yol açan eklem dejenerasyonu ve eklem harabiyetine karşı gelişen bir tamir sürecidir (16).

Yaş, cinsiyet ve obezite OA'de en önemli risk faktörleridir. Bunun dışındaki diğer risk faktörleri ise; genetik faktörler, osteoporoz, geçirilmiş eklem travmaları, mesleki zorlanmalar, spor aktiviteleri, kas güçsüzlüğü ve fiziksel aktivite azlığıdır (2).

Risk Faktörleri

Yaş:

Çok sayıda epidemiyolojik çalışmada ilerlemiş yaşın primer OA için önemli bir risk faktörü olduğu ortaya koyulmuştur. OA 25-34 yaş arasında % 0,1 oranında görülürken, 65 yaş üzerinde bu oran % 80'lerin üzerine çıkmaktadır (19,20). Yaşla eklem kıkırdağında artiküler yüzeyde yıpranma ve sertliğinde kayıp gibi yapısal değişiklikler olmaktadır. Yaşın ilerlemesiyle kondrositlerin mitotik ve sentetik aktiviteleri, anabolik büyüme hormonlarına yanıtları azalmaktadır (5,21). Ayrıca yaş ilerledikçe; eklemlerin çevresindeki ligamanların laksitesi artması ve propriyosepsiyon da azalmasıyla daha kolay zedelenebilir hale gelir (20,22).

Cinsiyet:

Diz OA gelişme riskinin kadınlarda erkeklerden 2,6 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca hastalık kadınlarda özellikle menapoz sonrası dönemde daha ciddi seyretmektedir (23).

Obezite:

Obezite OA için değiştirilebilir risk faktörlerinden en sık görülenidir. Vücut kitle indeksi (VKİ) artışı ile diz eklemde OA görülme sıklığı arasında yakın ilişki saptanmıştır (24).

Lokal mekanik faktörler:

Travma: Ekleme etkisiyle, OA' nın hızlı gelişmesine neden olabilir. Dizde menisküs ve çığraz bağ yırtıkları, kırıklar ve dislokasyonlar gibi travmatik faktörlerin ileride etkilenen eklemde OA gelişimini kolaylaştırdıkları bilinmektedir (25). Tekrarlayan travmanın; kıkırdağı zayıflatıp, subkondral kemiğin sertleşmesine sebep olduğu ileri sürülmektedir (5).

Mesleki aktiviteler: Ekleme tekrarlayıcı ve aşırı yüklenme OA gelişme riskini artırır (26,27). Uzun süreli ve tekrarlayıcı dizin bükülü olmasını gerektiren mesleklerde, radyografik diz OA' inin daha sık görülmektedir.

Spor ve fiziksel aktiviteler :

Spor aktivite ile aşırı kullanım ve buna bağlı olarak eklem hasarı oluşması arasında ilişki vardır. Yüksek yoğunlukta, eklemi zorlayan sporların ileride OA gelişme riskini arttırdığı düşünülmektedir (28,29).

Kas güçsüzlüğü:

Kasların güçsüzlüğü OA' nın bir sonucu olarak görülür (30). Ancak bazı çalışmalarda kuadriseps kas güçsüzlüğünün, radyografik OA gelişme riskini arttırdığı gösterilmiştir (31). Bu bulgu eklem çevresi kasların güçsüzlüğünün OA' nın risk faktörlerinden biri olduğunu göstermektedir.

Genetik faktörler:

Yapılan çalışmalar, OA' da belirgin genetik katkı olduğunu desteklemektedir (32). OA gelişmesindeki genetik faktörler; geleneksel ikiz ve ikiz olmayan kardeş ve popülasyon çalışmalarının sonuçları yoluyla belirlenmektedir (33). OA genetik olarak kompleks bir hastalıktır. Genetik çalışmalarda artmış OA riskinin; tekli bir gen defektinden çok, çoklu genle ilişkili olduğu gösterilmektedir (34).

Osteoartritin kalıtımsal kanıtı

OA kalıtımsal kanıtı, ilk olarak 1941 yılında parmaklarda Heberden nodülleri bulunan ailelerde Stecher tarafından gösterilmiştir. OA' lı olguların kardeşlerinde parmaklarındaki Heberden nodülleri, topluma göre üç kat daha fazla görüldüğünü belirlenmiştir (35,36). Ardından 1944 yılında Stecher ve arkadaşları, bu lezyonların tekli otozomal dominant genle kalıtımsal olarak aktarıldığını göstermişlerdir (36).

1963 yılında Kellgren ve arkadaşları tarafından İngiltere' de yapılan epidemiyolojik çalışmada, birinci derece akrabalarının radyografik OA taşıma olasılığının iki kat fazla olduğu gösterilmiştir (37).

Kalça ve diz OA' sı ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda, eklem replasmanı yapılmış hastanın kardeşinin, 2-3 kat daha fazla OA'ya yakalanma riski taşıdığı belirtilmiştir (38,39).

İkiz ve aile çalışmaları

Monozigotik ve dizigotik ikizlerin karşılaştırılması ile yapılan çalışmalar, genetik ve çevresel faktörlerin etkilerini ayırmamıza olanak sağlar. Çünkü monozigotik ikizler, genetik faktörler açısından tamamen uyumludur. Yani gerçekleşen herhangi bir değişim çevresel faktörlere dayandırılmaktadır. Dizigotik ikizler ise genlerin ortalama olarak yarısını paylaşırlar. Bu nedenle monozigotik ve dizigotik ikizlerde, genetik ve çevrenin katkıları araştırılabilmektedir(40).

Bu nedenle klasik ikiz çalışmaları, popülasyonda herhangi bir hastalığın kalıtsal olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan verimli bir yoldur (41). OA' de

monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre daha fazla görülmesi genetik yatkınlığı desteklemektedir (37).

45-70 yaş arası 120 dizigot ve 130 monozigot bayan ikizlerde yapılan klasik ikiz çalışmasında OA; monozigot ikizlerde, dizigot ikizlere göre 2 kat daha yüksek olduğu bulunmuştu. Genetik faktörlerin etkisinin, bilinen çevresel ve demografik faktörlerden bağımsız olarak % 39- 65 arasında bulunmuştur (42,43).

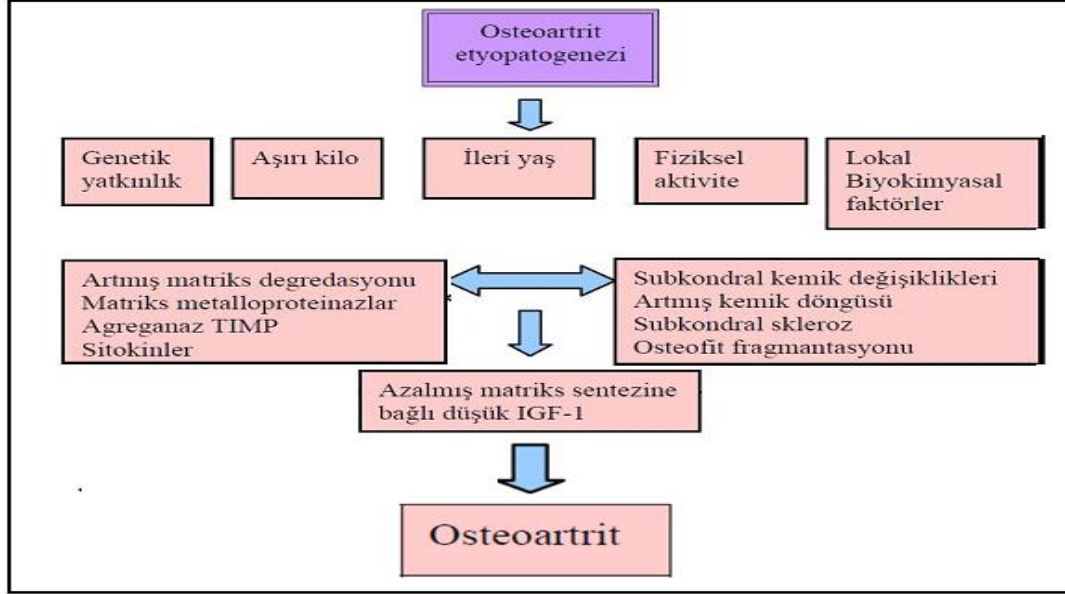
Yakın zamanda, diz OA' i gelişimi üzerine yapılan longitudinal bir çalışmada; 114 monozigotik, 195 dizigotik ikiz bayan çiftler ortalama 7,2 yıl süreyle izlenmiştir. Hem osteofit hem de eklem aralığı daralmasının ilerlemesi açısından, monozigotik ikizler arasındaki korelasyon, dizigotik ikizlere göre önemli oranda daha yüksek bulunmuştur(43).

Patogenez

OA, sinovyal eklemi oluşturan kıkırdak, sinoviyal membran, subkondral kemik, ligament ve periartiküler yapılar dahil olmak üzere eklemin tüm elemanlarını etkiler. OA başlangıcı genellikle bilinmeyen bir nedenle başlar ve idiyopatik ya da primer olarak tanımlanır. Bazen de bir eklem travması, enfeksiyon, herediter ya da gelişimsel metabolik veya nörolojik hastalıklar sonucu sekonder olarak gelişir.OA çeşitli biyokimyasal ve mekanik faktörlerle tetiklenen, yıkım ve onarımın bir arada olduğu dinamik bir süreçtir. Moleküler patogenezini tam olarak bilinmemekle beraber çeşitli genetik, çevresel, metabolik ve biyomekanik faktörlerin patogenezde katkısı olduğu düşünülmektedir. (16,43).

Kondrositler fizyolojik ve patolojik durumlarda kıkırdak metabolizmasını düzenlerler. Kondrositler, kondrosit-hücre dışı ağ arasında biyomekanik sinyaller, büyüme faktörleri, sitokinler ve integrinler aracılığıyla oluşan iletişim ağında yapım ve yıkım olayları normal kıkırdakta dengede iken OA hastalığında yıkım lehine gelişir. Kondrositlerde yapım etkisini düzenleyen büyüme faktörleri, TIMP (*tissue inhibitors of metalloproteinase*) yani metalloproteinazların doku inhibitörleri sinovya ve kondrositlerden salınır. Kondrositlerde yıkım etkisini düzenleyen sitokinler, sinovya ve kondrositlerden salınan MMP'dir (*Matriks metalloproteinaz*) (18).(Tablo 1

Tablo 1. OA patogenezi (43).



Erken OA' da, eklem kıkırdağının yüzeyi düzensizleşir, doku yüzeyindeki yüzeyel çatlaklar belirgin hale gelir. Hastalık ilerledikçe çatlaklar derinleşir, sonunda eklem kıkırdağında kopmalar oluşur ve subkondral kemik açığa çıkar.

OA'de ilk dönemde matriksin makromoleküler yapısı bozularak su içeriği artar. Eklem kıkırdağındaki ana kollojen normal eklem kıkırdağındaki gibi OA' de de tip II kollojendir. Tip II kollajen konsantrasyonu normal kalır. Proteoglikan konsantrasyonu ve agregasyonu azalır. OA' de kollojen liflerinin boyu normale göre kısalmış, lif çapı azalır ve sıkı örgü yapıları gevşer. Tüm bu olayların sonucunda geçirgenliğin artması su ve diğer moleküllerin matrikste daha kolay hareket etmesine yol açar ve matriksin sertliği azalır. Bu değişiklikler dokunun mekanik hasara uğrayabilirliğini artırarak kıkırdağın kompresyon ve mekanik streslere daha dirençsiz hale gelmesine yol açar (2)

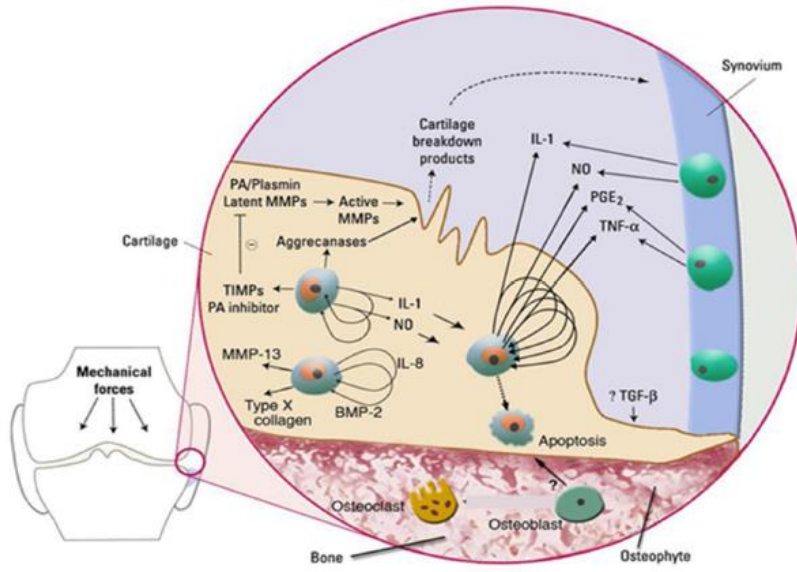
İkinci aşamada kondrositler doku hasarı, osmolarite ve yük dansitesinde değişikliği fark edip hızla hücresel yanıt uyaran mediyatörler salgırlar. Kondrositler birtakım mekanik ve kimyasal streslere yanıt olarak nitrik oksit (NO) üretirler. NO hızla yayılır ve matriks makromoleküllerinin degradasyonuna yol açan IL-1'in salınımını indükler(5,16).

Yapılan çalışmalarda OA'lı hastaların sinovyal sıvılarında IL-1, tümörnekrotizan faktör- α (TNF- α), IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin ve matriks degradasyonuna yol açan matriks metalloproteinaz (MMP) gibi proteazların kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca NO, SOR ve prostaglandin-E2 (PGE2)'nin de yüksek olduğu gözlenmiştir (44).

Sitokinler, yangısal olaylarda rol oynayan hücrelerarası sinyal proteinleridir, inflamatuvar hücrelerden salınırlar.; IL-1 ve TNF- α eklem kıkırdağında etkisi olan en önemli sitokinlerdir. **IL-1**; tip 2 kollajen ve proteoglikan üretimini baskılar. Prostaglandin üretimini, MMP aktivasyonunu uyarır. **TNF- α** ; IL-1 benzeri etki yapar. OA'lı kıkırdağın subkondral kemik hasarında rol alır (18).

NO; moleküler oksijen, süperoksit anyonu (O₂⁻), sülfhidril ve tiol gruplarına yüksek affinite gösteren iki atomlu serbest bir radikaldir. NO, oksijen varlığında nitrit ve nitrate, diğer SOR'nin varlığında ise önce peroksinitrit (ONOO⁻)'e sonra da hidroksil radikallerine (OH⁻ ve H₂O₂) dönüşür. ONOO⁻, kondrositlerdeki lipid peroksidasyonunu başlatan sitotoksik bir radikaldir. Radikallerin membran lipidlerine etkisi sonucunda ise malondialdehid adı verilen bir ürün ortaya çıkmaktadır. ONOO⁻ ve SOR ile hücre dışı matriks yıkımı aktiflenmekte ve kıkırdak dejenerasyonuna yol açan oksidatif hasar ortaya çıkmaktadır (2,45).

OA'deki kıkırdak yıkımında dokuda yüksek oranda bulunan MMP'ler önemli rol oynamaktadır. MMPyani matriks metalloproteinazlar katalitik bölgelerinde çinko (Zn) metali bulunduran; kollajenazlar, stromelizinler, jelatinazlar gibi hücre dışı ağda yıkıcı etkisi olan enzim ailesidir. Kollajenaz doğal kollajenin, stromelisin proteoglikanların yıkımından sorumlu iken, jelatinaz denatüre kollajenin yıkımından sorumludur. MMP-13'ün (kollajenaz 3), OA'teki hipertrofik kondrositlerde normal kıkırdaktaki kondrositlere göre yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir (45,46). MMP'lere karşı onların aktivitesini inhibe eden doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) bulunmaktadır.(Şekil 5.). Normal dokuda MMP'ler ile TIMP arasında doğal bir denge vardır. Yapılan çalışmalarda bu dengenin OA'lı hastalarda TIMP aleyhine bozulduğu gösterilmiştir (44,47,48,49).



Şekil 5. OA'nın moleküler patogenezi (44).

OA gelişiminin bu ikinci evresinde tamir yanıtı proteazların katabolik etkisine karşı koyabilir ve bazen dokunun tamirini sağlayabilir. Tamir yanıtı yıllarca sürebilir; bazen hastalığın gidişini geçici de olsa durdurabilir. Dahası bazı tedavi girişimleri tamir yanıtının gelişimini sağlayabilir.

Stabilizasyon veya tamir girişiminin başarısız olması sonucu hastalığın üçüncü dönemi başlar. Bu dönemde progresif bir kıkırdak kaybı, kondrositik anabolik ve proliferatif yanıtlarda azalma görülür (2).

Sınıflandırma

Osteoartritin sınıflandırılmasında; tutulan eklem ve etyolojiye göre olmak üzere iki ana sistem kullanılmaktadır. OA ayrıca spesifik özelliklerine göre de sınıflandırılabilir (25). (Tablo 2.)

OA etyolojiye göre, radyolojik ve patolojik tanısı sonucunda primer (idiyopatik) ve sekonder OA olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (25).

Tablo 2. Osteoartrit sınıflandırması (25).

<p>A. Tutulan eklem göre sınıflandırma</p> <ol style="list-style-type: none">1. Monoartiküler2. Oligoartiküler3. Poliartiküler (yaygın) tutulumlar <p>Eklem içinde tutulum gösteren ana bölgeler:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Kalça (superior, medial, konsantrik),2. Diz (medial, lateral, patellofemoral),3. El (İnterfalangial eklemler, başparmak karpometakarpal eklem),4. Vertebra (apofizer eklemler, intervertebral disk hastalığı),5. Diğerleri	<p>C. Etiyolojiye göre sınıflandırma</p> <ol style="list-style-type: none">1. Primer (İdyopatik) OA2. Sekonder OA <p>a. Metabolik nedenlere bağlı</p> <ol style="list-style-type: none">1. Okronozis2. Akromegali3. Hemakromatozis4. Kristal depo hastalığı <p>b. Anatomik nedenlere bağlı</p> <ol style="list-style-type: none">1. Femoral epifiz kayması2. Epifiziyal displaziler3. Blount hastalığı4. Legg-Calve-Perthes hastalığı5. Kalçanın konjenital dislokasyonu6. Bacak boyu eşitsizliği7. Hipermobilité sendromları <p>c. Travmatik nedenlere bağlı</p> <ol style="list-style-type: none">1. Major eklem travması2. Eklem fraktürü veya osteonekroz3. Eklem operasyonu4. Kronik hasar (iş ve uğraşıya bağlı artropatileri) <p>d. İnflamatuvar nedenlere bağlı</p> <ol style="list-style-type: none">1. İnflamatuvar artritler2. Septik artrit
<p>B. Spesifik özelliklerine göre</p> <ol style="list-style-type: none">a. İnflamatuvar OAb. Eroziv OAc. Atrofik veya destrüktif OAd. Kondrokalsinozis ile birlikte olan OAe. Diğerleri	

DİZ OSTEOARTRİTİ (GONARTROZ)

Diz eklemi volüm ve eklem kıkırdak yüzeyi açısından insandaki en büyük eklemdir. Periferik eklemler arasında primer OA'nın en sık görüldüğü yerdir. Diz OA dizdeki üç komponenti de tutabilir. En sık tutulan komponent medial tibiofemoral (%75), ikinci sıklıkta tutulan patellofemoral (%50) komponenttir. Tek başına lateral tibiofemoralkomponent tutulumu ise oldukça nadirdir. Her komponentin farklı risk

faktörlerine maruz kalması nedeniyle lokalizasyonları farklıdır. Tibiofemoral komponent için şişmanlık, diz yaralanması ve menisektomi; patellofemoral komponent için posttravmatik olaylar, patella sublüksasyonu ve genu valgum gibi risk faktörleri sayılabilir (2,49).

Klinik Belirti ve Bulgular

Diz OA'nın en önemli semptomu ağrıdır. Özellikle kullanıma bağlı eklem ağrısı sıktır. Ağrı istirahat ile azalır. Osteofitlerin periostu irrite etmesi, kapsülde distansiyon, trabeküler mikrofraktür, ve sinovit atakları ağrının oluşumunda önemli rol oynar. Diz OA'da ağrı dışında sertlik, şişlik, krepitasyon ve fonksiyon kaybı gibi bulgularda görülür. Hastalar merdiven inip çıkmada ve çömelmede zorluk yaşar. Yürüme mesafesi azalır ve çabuk yorulma görülür. Diz OA'de diğer eklem OA'lerine göresinovit ve efüzyon daha sık gözlenir (2).

Laboratuvar Bulguları

OA için özgül tanısal bir test yoktur. Primer OA'de eritrosit sedimentasyon hızı, tam kan, idrar ve kan biyokimya tetkikleri normaldir. Romatoid faktör (RF) ve antinükleer antikor klasik olarak negatiftir (50).

İnflamasyon belirleyicisi olan C-reaktif protein (CRP)'in artmış düzeyleri uzun dönemli diz OA'da radyolojik ilerleme açısından belirleyici olduğu düşünülmektedir. Sürekli düşük dereceli inflamasyon OA etyolojik nedenlerindedir. CRP'nin yükselmesi hafif ve orta dereceli OA'da ilerlemeyi belirlemektedir (50,51).

1025 kadın üzerinde yürütülen bir çalışmada yüksek serum CRP düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde diz OA prevalansını, diz OA'nın şiddetini arttırdığı ve bilateral diz OA'sı olan kadınlarda tek taraflı OA olanlara göre daha yüksek CRP düzeyleri görüldüğü saptanmıştır. Diz OA gelişmeyen kadınlara kıyasla diz OA gelişen kadınlarda yaklaşık 2,5 yıl öncesine göre CRP değerinin yüksek olduğu görülmüştür. Bu ve benzeri çalışmalarda erken diz OA'sında CRP düzeylerinin orta ölçüde arttığını ve daha yüksek düzeylerin zaman içinde ilerlemede belirleyici olduğu rapor edilmiştir(52).

Radyolojik Bulgular

Radyolojik değerlendirmeler hem hastalığın tanısı hem de şiddetinin saptanması için oldukça faydalıdır. Direk grafiler OA tanısındaki en faydalı görüntüleme yöntemi olmalarına rağmen çok hassas değildir. Diz OA'da radyografik olarak eklem aralığındadaralma, subkondral kemik sklerozu, osteofitler, subkondral kemik kistleri, kemik kollapsı, eklem içi kemiksi cisimler, deformite ve subluksasyon izlenebilir (53).

Diz OA'da radyolojik evreleme için sıklıkla, klinik olarak OA ile uyumu gösterilmiş olan Kellgren-Lawrance (K/L) skalası kullanılır (53) (Tablo 2.3)

Tablo 3. Kellgren-Lawrance skalası (53).

Evre 0	Normal
Evre 1	Şüpheli osteofitler, normal eklem aralığı
Evre2	Kesin osteofit, eklem aralığında şüpheli daralma
Evre 3	Orta derecede çok sayıda osteofit, eklem aralığında keskin daralma, hafif skleroz
Evre 4	Büyük osteofitler, belirgin skleroz ve kistler, eklem aralığında ileri derecede daralma, kemik uçlarında kesin deformite

Diz OA'ya tanısal yaklaşımda direkt grafiler çoğunlukla yeterli olmakla birlikte, bazen bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MRG) görüntüleme yöntemleri gerekli olabilir (54).

BT; Kortikal kemik ve yumuşak doku kalsifikasyonlarını MRG'den daha iyi görüntüleyebilir. Kıkırdak radyopak bir yapı olmadığı için BT ile direkt görüntülenemez. Bu nedenle özellikle kemiksel değişikliklerin görüntülenmesinde kullanılır (54).

MRG; OA görüntülemesinde kesitsel görüntüler sağlayabilmesi ve tüm eklem yapılarını ve yumuşak dokuları net görüntülemesi gibi avantajları vardır. OA' de kıkırdığı görüntülemeye en önemli tetkikdir (54).

Tanı Kriterleri

Diz OA için American Collage of Rheumatology (ACR) tarafından klinik, laboratuvar ve radyolojik verilerin kombinasyonu ile geliştirilen tanı kriterleri aşağıda görüldüğü gibidir (50,55).

Klinik ve Radyolojik Tanı Kriterleri

1. Önceki ayın çoğu gününde diz ağrısı olması
2. Radyografide eklem kenarlarında osteofitler
3. OA' in tipik sinoviyal sıvı bulguları (berrak, visköz veya beyaz küre sayısı <math><2000/mm^3</math>den en az ikisi olmalı)
4. Yaşın 40 ya da üzerinde olması
5. Dizde sabah sertliğinin 30 dakika ya da altında olması
6. Aktif eklem hareketi sırasında krepitasyon varlığı

Diz OA tanısı için; 1, 2 veya 1,3,5,6 veya 1,4,5,6 kriterlerinin varlığı gerekir.

Osteoartritin Tedavisi

Günümüzde OA'li hastanın tedavisinde özellikle ağrı ve fonksiyonel kısıtlılığın azaltılması ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak hedeflenmektedir. OA tedavisinin amaçları hastayı OA konusunda eğitmek, ağrıyı ve şişliği azaltmak, fonksiyonu korumak ve yaşam kalitesini arttırmaktır (56).

Tedavide farmakolojik olmayan tedaviler, farmakolojik tedaviler ve cerrahi tedaviler uygulanmaktadır.

Avrupa Romatizma Birliği (EULAR) veya Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) tarafından oluşturulan tedavi rehberlerine göre tedavi; risk faktörleri (obezite, yaş,

komorbidite, polifarmasi), ağrı düzeyi, yapısal hasarın yerleşimi ve derecesi dikkate alınarak kişiye özgü yapılmalıdır (56,57).

I. Farmakolojik Olmayan Tedavi Yöntemleri:

1. Eğitim
2. Zorlayıcı aktivitelerden kaçınma ve eklemi koruma
3. Kilo verme
4. Egzersiz
5. Uygun ayakkabı, baston, ortez ve breys kullanımı
6. Fizik tedavi (Sıcak uygulama, Soğuk uygulama, Elektroterapi, Lazer, Manipulasyon, Masaj, Traksiyon)
7. Diğer yöntemler (Pulse magnetik alan tedavisi, Balneoterapi, Akupunktur, Ozonterapi, Mezoterapi)

II. Farmakolojik Tedavi Ajanları:

1. Topikal ajanlar (Kapsaisin, NSAİİ' ler)
2. Analjezikler (Asetaminofen, Narkotik analjezikler)
3. Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar
4. Spesifik anti-osteoartritik ilaçlar (Diaserin, Glukozamin, Kondroitin sülfat, Avakado/soya fasülyesi)
5. İntraartiküler enjeksiyonlar (Kortikosteroidler, Hyalüronik asit)
6. Diğer Nutrasötik Ajanlar: S-Adenozil Methionin (SAME), Resveratrol, Polifenoller, Zencefil (Ginger), Vitamin / Mineraller

III. Cerrahi Tedavi

Konservatif tedavi ile yeterli klinik cevap alınamadığı durumlarda ve anlamlı derecede ağrı ve fonksiyonel kayıp bulunan hastalarda cerrahi alternatifler düşünülmelidir. OA' daki cerrahi yaklaşımlar tedavi esaslarına göre; mevcut semptomları gidermek (örn: lavaj ve eklem debridmanı), yapısal ilerleme riskini önlemek (örn: osteotomi) ve ilerlemiş hastalıkla ilişkili semptomları iyileştirmek (örn: eklem replasmanı) olarak üç grupta toplanabilir (56).

POLİMORFİZM

Grekçe ‘poly’ ve ‘morphos’ kelimelerinden oluşur,çeşitli form anlamına gelir.DNA düzeyinde nükeotid farklılıkları DNA polimorfizmi’dir.Sıkça rastladığımız ‘polimorfizm’ terimi hemen daima DNA polimorfizmini anlatmak için kullanılır.

Genomdaki DNA dizgilerinin bir kısmı ,yaşam için çok önemli olduklarında sürekli korunur.bir kısım DNA’da ise kısıtlı değişiklikler oluşmaktadır.Bu tip değişikliklerin olduğu DNA bölümleri polimorfik ,o kısımdaki DNA dizgisi ise polimorfizm olarak adlandırılır (58,59).

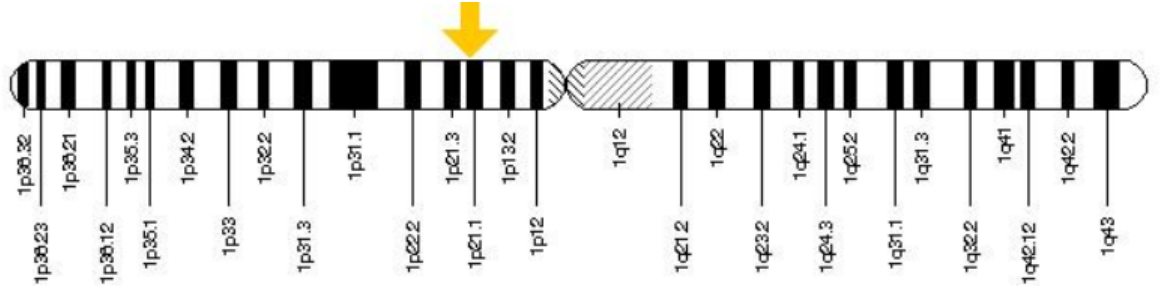
OSTEOARTRİT KALITIMINDA ADAY GENLER

OA’ daki genetik anormalliklerin; kırıkta veya kemik metabolizmasında bir değişikliğe ya da yapısal bir defekte (örneğin kollejen) neden olabileceği düşünülmektedir (60).

COLL11A1:

COLL11A1 geni 1p21 lokusunda lokalizedir.*COLL11A1*geni normal iskelet gelişimi için gereklidir ve kas, ligamentlerin güç ve mukavemetini sağlamada görevlidir.Göz küresinin (vitreus), iç kulak ve omurga (nükleus pulposustaki) 'da omurlar arasındaki disklerin yapısına katılır. *COLL11A1*'deki mutasyonlar kraniofasial anomaliler,miyopi ve duyma eksikleri gibi bir çok hastalığa neden olabilir. Fonksiyonlarının eksikliği bir çok hastalığa neden olmasına rağmen bu gen ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır (61).

COLL11A1 geni Lef1 (lymphocyte enhancer-binding factor 1) tarafından indirekt olarak aktive edilir ve osteoblast maturasyonunun negatif düzenleyicisidir. *COLL11A1* geninin, osteoblastlardan ALP üretimi yavaşlatıp osteoblast farklılaşması ve mineralizasyonu üzerine olan etkisini Lef 1'in gen üzerindeki baskılayıcı etkisi ile gerçekleştiği gösterilmiştir (61).



Şekil 6. Coll11A1 Gen haritası (61).

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda bu genin baskılanması sonrası tip II kollajen fibrilogenesi, kondrosit olgunlaşması ve kemik mineralizasyonunda bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (61).

VEGF:

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yerleşmiştir. VEGF sentezinden sorumlu 8 ekzon bölgesi bulunmaktadır; bu bölgelerin farklı birleşimleriyle VEGF izoformları sentezlenmektedir. Farklı izoformlar farklı reseptör afinitelerine ve dolaşımında farklı çözünürlüğe sahiptirler. VEGF etkisini tirozin kinaz reseptörü üzerinden gösterir (62).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), ilk defa tümörlerin asit sıvısı akımını arttıran bir permeabilite faktörü olarak bulunmuştur ve vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra VEGF bir anjiogenik faktör olarak izole edilmiş ve endotel hücre 31 proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir. Bilinen en potent anjiogenik sitokindir (62,63,64).

VEGF ailesi endotel hücre büyümesi, vaskülogenez ve anjiogenezde önemli bir mediatördür. VEGF sayesinde endotel hücreleri proliferat olmaktadır ve bu büyüme faktörüne doğru göç edip dizilerek yeni damarlar için öncü olan tüp formasyonu oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca kültürlenmiş endotel hücreleri, fibroblastlar, keratonositler, insan sarkoma hücreleri ya da mercek epitelyal hücreleri üzerinde mitojenik etkisi vardır (62,63,64).

VEGF'in bir diğer etkisi de; NO salınımını ve NO aracılı vazodilatasyonu uyarmasıdır. Vasküler endotel hücrelerin non-mitojenik cevaplarından olan kemotaktik olaylarda da önemli rolü olduğu gösterilmiştir. VEGF monositler gibi bazı kan hücreleri için güçlü bir kemotaktik ajandır. Enflamasyon esnasında vasküler permeabiliteyi; histamin, bradikinin, lökotrien-B4, lökotrien-C4 ve lökotrien-E4'den daha etkili artırabilir. Ayrıca von-Willebrand faktörün (vWf) salgılanmasını artırır ve Prostosiklin (PGI2) üretimini uyarır. VEGF ile yapılan bazı çalışmalarda; endotel hücrelerden ICAM-1, VCAM-1 ve P selektin gibi önemli bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırdığı görülmüştür (63).

VEGF ailesi memelilerde *VEGF-A*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D* ve plasenta büyüme faktörü (*PGF*) olmak üzere beşe ayrılır (65). (Tablo 4.)

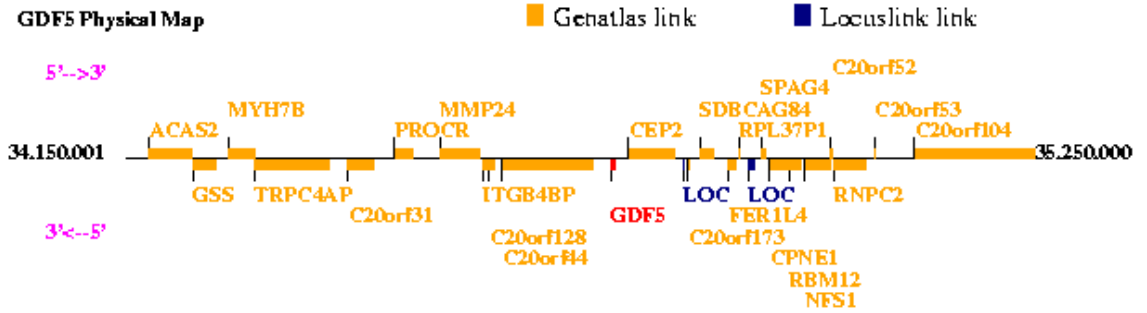
Tablo 4. *VEGF* Ailesi (65).

TİP	İŞLEV
<i>VEGF-A</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • Anjiogenez <ul style="list-style-type: none"> • ↑ Göç ve endotel hücreleri • ↑ mitoz ve endotel hücreleri • ↑ matris metaloproteinaz aktivitesi • kan damarı lümeni oluşturur • fenestrasyonlar oluşturur • Makrofajlar ve granülositlerin için kemotaktik • Vazodilatasyon
<i>VEGF-B</i>	Embriyonik anjiyogenez (miyokard dokusu)
<i>VEGF-C</i>	lenfanjiogenetik
<i>VEGF-D</i>	lenfatik damar çevreleyen akciğer bronşollerinin gelişimi için gerekli
<i>PGF</i>	Vaskülogenez için önemli, aynı zamanda iskemi, enflamasyon, kanser ve yara iyileşmesi sırasında anjiogenez için gerekli.

Büyüme -Farklılaşım Faktörü 5 (GDF-5):

Büyüme-Başkalaşım Faktörü 5 [Growth Differentiation Factor-5 (GDF-5)], aynı zamanda kıkırdak türevi morfogenetik protein-1 [CDMP-1 (cartilage-derived

morphogenetic protein-1)] olarak da bilinir, Transforming Growth Faktör- β (TGF- β) süperailinin bir üyesidir ve kemik morfojenik proteini (BMP) ile yakın ilişkilidir. 20.kromozomun kısa kolunda (20q11.2) yer alan bu gruptaki proteinlerin, hem embriyonik hem erişkin dokularında, hücre büyümesi ve farklılaşması üzerine etkili olduğu bilinmektedir. GDF-5 4.88 kb büyüklüğünde ve 2 ekzon bölgesi bulunur (66).



Şekil 7. GDF-5 gen haritası(66).

Mezenşim hücrelerinin kıkırdak farklılaşmasında rol oynadığı açıklanmış olup, kondrosit çoğalmasını tetikleyen bir faktör olduğu ayrıca belirtilmiş ve tendon, bağ, kemik morfogenezinde de önemli rol oynadığı gösterilmiştir (67). Bu büyüme faktörünün ilgili geninde meydana gelen mutasyonların farelerde, iskelet sistemi bozukluklarına ve eklem içi bağlarının gelişim yetersizliğine yol açtığı deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (68). Özellikle eklem morfogenezinde etkin rol aldığı gösterilmiş olup, kıkırdak hücreleri üzerinde aynı zamanda düzenleyici bir etkisi olabileceği düşünülmektedir (69).

GDF-5'in tendonlar üzerindeki etkilerinin erişkin dönemde de sürdüğü düşünülmektedir. GDF-5'in fonksiyon bozukluğu ile giden durumlarda kollajen yapısında kusur geliştiği ve dış kuvvetlere daha dayanıksız bir kollajen üretimi ile bağ ve tendonlarda yapısal sorunlar oluştuğu düşünülmektedir (70).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma haziran 2015 ile oçak 2016 tarihleri arasında Pamukkale üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ile ortak katkıları ile yapıldı. Çalışmamız 07.07.2015 tarih 60116787-020/41033 karar numarası ile Pamukkale üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Ayrıca çalışma 2015TPF029 Proje kodu ile Pamukkale üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje birimine kayıt edildi. Araştırmaya alınan hastalara araştırmanın amacı, uygulanacak tedaviler ve olası yan etkiler hakkında bilgi verildi ve aydınlatılmış onam formları imzalatılarak izinleri alındı.

HASTA SEÇİMİ

Prospektif ve randomize olarak gerçekleştirilen çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji kliniğince Total ve unikondiler diz artroplastisi uygulanan hastalar ve Kellgren /Lawrence skoru 3-4 artrozu olan 100 hasta dahil edildi.(sekonder artroz nedenleri olan Travmatik artroz ,RA gibi romatizmal hastalıklar,metabolik bozukluklar,aks bozukluğu olan hastalar dahil edilmedi.)

Kontrol grubunda ise Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Tramatoloji Polikliniğine gelen diz ağrısı semptomları olan ve radyografik olarak Kellgren /Lawrence skalasına göre artroz bulguları olmayan 100 hasta çalışmaya dahil edildi. (sekonder artroz nedenleri olanlar dahil edilmedi.)

RADYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Çalışmaya dahil edilen her hastanın demografik verileri kaydedildi. Hastaların ayakta yük vererek ön-arka ve lateral pozisyonlarda dizgrafileri çekildi. Grafiler Kellgren - Lawrence (K-L) skalasına göre değerlendirildi (71).

GENETİK VE BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

Tüm deneklerden kan örnekleri alındı. Numuneler çalışılncaya kadar -80°C dondurularak saklandı.

Periferik kandan DNA izolasyonu

1. 20 µL Qiagenproteazı (veya proteinaz K) 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne eklendi.
2. Üzerine 200 µl kan örneği eklendi.
3. Tüpün içerisine 200 µL kitle birlikte sağlanan AL tamponu eklendi ve 15 sn vorteks yapıldı.
4. 56°C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrası kapakta toplanan damlacıkları toplamak amacıyla kısa süre santrifüj edildi.
6. Tüpe 200 µL %96-100'lük ethanol eklendi ve 15 snvorteks yapıldı. Kapakta toplanan damlacıkları toplamak amacıyla kısa süre santrifüj edildi.
7. Bir önceki basamaktaki karışım kitle birlikte sağlanan spin kolonlara aktarıldı. 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dksantrifüj edildi. Santrifüjden sonra spin kolonlar kitle birlikte sağlanan yeni 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi.
8. Kolon içerisine kitle birlikte sağlanan 500 µl AW1 tamponu eklenir. 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dksantrifüj edildi.Santrifüjden sonra spin kolonlar kitle birlikte sağlanan yeni 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi.

9. Kolon içerisine kitle birlikte sağlanan 500 µl AW2 tamponu eklendi. Son hızda (20.000 x g ; 14.000 rpm) 3 dk santrifüj edildi.
10. Santrifüjden sonra spin kolonlar yeni 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi. Son hızda (20.000 x g ; 14.000 rpm) 1 dk santrifüj edildi.
11. Santrifüj işleminden sonra kolonlar 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve toplama tüpleri uzaklaştırıldı. Kolon içerisine kitle birlikte sağlanan 200 µL AE tamponu veya distile su eklendi. Oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildi. 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dksantrifüj edildi.
12. 1.5 ml mikrosantrifüj tüpü içerisine toplanan genomik DNA'lar -20⁰C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR)

Her bir örnekte belirlenen bölgeler için PCR reaksiyonu yapıldı. PCR reaksiyonunda saptanan primer bağlanma ısıları ile kullanılacak taq polimeraz çalışma koşulları girilerek ABI Verity PCR cihazında PCR reaksiyonu gerçekleştirildi.

Elde edilen ampliconlar aşağıdaki protokole uygun olarak saflaştırıldı.

PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

Exosap-it -20 C'DEN çıkarılırdı.

5ul PCR ürünü üzerine 2 ul Exosap-it reagent eklendi. Toplam hacim 7 ul oldu.

37 C'de 30dk, 80 C'de 15 dk inkübe edilerek örnekler dizi analizi reaksiyonuna hazır hale getirildi.

Döngüsel Dizileme Tepkimesi (Cycle Sequencing)

Saflaştırılmış PCR ürünleri floresan işaretli dideoksinükleotidlerin kullanıldığı döngüsel dizileme tepkimesine tabi tutuldu. Bu tepkime “*Cycle Sequencing Kit*” kullanılarak gerçekleştirildi. Döngüsel dizileme tepkimesi için kullanılacak kimyasalların konsantrasyonu ve hacimleri Tablo 5’de belirtildi. Her örnek için ileri ve geri primerler kullanılarak ayrı 2 döngüsel dizileme tepkimesi yapıldı.

Döngüsel dizileme tepkimesinde kullanılacak kimyasallar

Tablo5. Kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal	Konsantrasyon	Hacim
BigDye Terminator	2,5X	4 µl
BigDye Dizileme	5X	2 µl
Tamponu		
Primer (ileri ya da geri)	-	3,2 pmol
Örnek	-	3-10 ng
Distile su	-	20 µl’ye tamamlanmış şekilde
Son hacim	1X	20 µl

Tepkime için hazırlanan mikrosantrifüj tüplerine malzemeler konulduktan sonra tüpler tepkimenin gerçekleşmesi için ısı döngü cihazına konuldu. Isı döngü cihazındaki program Tablo 5’te gösterilmiştir.

Döngüsel dizileme tepkimesinin gerçekleşeceği program

96°C 1 dk

96°C 10 sn

50°C 5 sn 25 Döngü

60°C 4 dk

Etanol/EDTA/Sodyum Asetat ile Çöktürme

Temiz dizileme verileri elde edebilmek için döngüsel dizileme tepkimesi sonucunda elde edilen ürünleri saflaştırmak gerekmektedir. Saflaştırma ile döngüsel dizileme tepkimesinde kullanılan BigDye Terminator kalıntıları ortamdan uzaklaştırılır. Saflaştırma için Etanol/EDTA/Sodyum Asetat ile çöktürme yöntemi kullanıldı.

Etanol/EDTA/Sodyum Asetat ile çöktürme için; döngüsel dizileme tepkimesi ürünlerini içeren her mikrosantrifüj tüpüne sırasıyla 2 µl 125 mM EDTA, 2 µl 3 M sodyum asetat (NaOAc) ve 50 µl %100'lük etanol eklenip iyice karıştırıldı ve mikrosantrifüj tüpleri 15 dk oda sıcaklığında bekletildi. 2000-3000xg'de 30 dk santrifüjlendikten sonra süpernatant atıldı. 70 µl %70'lik etanol eklendi ve +4°C'ye soğutulmuş santrifüjde 1650xg'de örnekler 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılıp örnekler 185xg'de 1 dk santrifüj edildi.

Otomatik Dizi Analizi Cihazına Yükleme

Saflaştırılmış örnekler kapiller sistemli otomatik dizi analizi cihazı olan ABI 3500XL Genetic Analyzer cihazına yüklendi ve dizi analizi yapıldı.

Bunun için; örneklerin üzerine 15 µl formamid eklenerek pipetaj yapıldı. Daha sonra örnekler ABI 3500XL Genetic Analyzer Dizi Analizi cihazı ile uyumlu 96 kuyulu reaksiyon plakasına (96-Well Reaction Plate) aktarıldı ve plaka plastik septa kapak ile kapatılıp örneklerin denatüre olması için 5 dk 95°C'de bekletildikten sonra 5 dk buz üzerinde bekletildi. Plaka ABI 3500XL Genetic Analyzer cihazına yüklendi ve dizi analizi yapıldı. Cihazdan elde edilen dizi verileri değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi ; parametrik test varsayımları

sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare Analizi kullanıldı.

BULGULAR

2 farklı grup altında incelenen olgularda primerosteoartrit nedeniyle total ve unikonkiler diz artroplastisi uygulanan 100 kişi hasta grubu , diz ağrısı semptomları olan ve radyografik olarak Kellgren /Lawrence skalasına göre artrozu olmayan 100 kişi kontrol grubu olarak tanımlanmıştır.

Tablo 6. Hastaların demografik özellikleri

	Hasta Grubu (n=100)	Kontrol Grubu (n=100)
Yaş (yıl)	60,2±7.8	58.4±5,8
Cinsiyet (K/E)	82/18	77/23
VKİ(kg/m²)	25.20±3,48	25.94±4,8

Hasta gruptaki hastaların yaşları 46 ile 80 arası değişen (ortalama 60,2±7.8),kontrol gruptaki hastaların yaşları 51 ile 82 arası değişen (ortalama 58,4±5,8) olarak bulunmuştur. Yaş yönünden gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. (p=0,078; p>0,05). Yaş yönünden gruplardaki kadın erkek arasında da anlamlı bir fark gözlenmedi. (p=0,765; p>0,05).

Hasta grubundaki hastaların 18'i erkek, 82'i kadın, kontrol grubundaki hastaların 23'ü erkek, 73'ü kadındı. Cinsiyet yönünden gruplar arası anlamlı bir farklılık gözlenmedi. (p=0,305; p>0,05).

Hasta grubundaki hastaların VKİ25.20±3,48, kontrol grubundaki hastaların VKİ25.94±4,8 olarak bulunmuştur. VKİ yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.(p= 0,068 ;p>0,05)

Hastaların ayakta yük vererek ön-arka lateral pozisyonlarda karşılaştırmalı diz grafileri çekildi. Grafiler Kellgren - Lawrence (K-L) skalasına göre değerlendirildi.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *COLL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizm dağılımı tablo 7’ de verilmiştir.

Tablo 7. *COLL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizm dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
<i>COLL11A1</i>	rs4907986	Hasta (n=100)	40 (%40)	47 (%47)	13 (%13)
		Kontrol (n=100)	36 (%36)	56 (%56)	8 (%8)
	rs1241164	Hasta (n=100)	75 (%75)	23 (%23)	2 (%2)
		Kontrol (n=100)	72 (%72)	28 (%28)	0 (%0)

COLL11A1 geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizmi 100 hasta ve 100 kontrol olgusunda çalışıldı.

İncelenen 100 hasta grubunda rs4907986 polimorfizmi; 40 (%40) hasta homozigot, 47 (%47) hasta heterozigot, 13 (%13) hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 36 (%36) hasta homozigot, 56 (%56) hasta heterozigot, 8 (%8) hasta polimorfik olarak saptandı.

rs1241164 polimorfizmi için ise; 100 hasta grubunda 75 (%75) hasta homozigot, 23 (%23) hasta heterozigot, 2 (%2) hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 72 (%72) hasta homozigot, 28 (%28) hasta heterozigot olarak saptanırken hiçbir hastada polimorfizme rastlanmadı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile *COLL11A1* rs4907986 polimorfizminin OA’ e etkisini sorguladık. Hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunmadı. (P=0,351; p>0,05). Aynı şekilde rs1241164 polimorfizm için de hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (p=0,193; p>0,05). Ancak rs4907986 polimorfizmi rs1241164 polimorfizme göre hem hasta hem kontrol grubunda daha fazla hasta polimorfizm gösterirken, rs1241164 polimorfizmi için herhangi bir hastada polimorfizme rastlanmadı.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *COL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. *COL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
rs4907986	Hasta (n=100)	Kadın	30 (%36,6)	42 (%51,2)	10 (%12,2)
		Erkek	10 (%55,5)	5 (%27,8)	3 (16,7)
	Kontrol (n=100)	Kadın	24 (%31,2)	47 (%61)	6 (%7,8)
		Erkek	12 (%52,2)	9 (%39,1)	2 (8,7)
rs1241164	Hasta (n=100)	Kadın	58 (%70,7)	22 (%26,8)	2 (%2,4)
		Erkek	17 (%94,4)	1 (%5,6)	0 (%0)
	Kontrol (n=100)	Kadın	56 (%72,7)	28 (%27,3)	0 (%0)
		Erkek	16 (%69,6)	7 (%30,4)	0 (%0)

İncelenen 100 hasta grubunda cinsiyete göre rs4907986 polimorfizmi; 30 (%36,6) bayan hasta homozigot, 42 (%51,2) bayan hasta heterozigot, 10 (%12,2) bayan hasta polimorfikken, 10 (%55,5) erkek hasta homozigot, 5 (%27,8) erkek hasta heterozigot, 3 (%16,7) erkek hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 24 (%31,2) bayan hasta homozigot, 47 (%61) bayan hasta heterozigot, 6 (%7,8)

bayan hasta polimorfikken, 12 (%52,2) erkek hasta homozigot, 9 (%39,1) erkek hasta heterozigot, 2 (%8,7) erkek hasta polimorfik olarak saptandı.

rs1241164 polimorfizmi ise cinsiyete göre hasta grubunda ; 58 (%70,7) bayan hasta homozigot, 22 (%26,8) bayan hasta heterozigot, 2 (%2,4) bayan hasta polimorfikken, 16 (%94,1) erkek hasta homozigot, 1 (%5,9) erkek hasta heterozigotken, erkek hasta grubunda polimorfizm saptanmadı. Kontrol grubunda ise 56 (%72,7) bayan hasta homozigot, 28 (%27,3) bayan hasta heterozigotken, 16 (%69,6) erkek hasta homozigot, 7 (%30,4) erkek hasta heterozigotken, hem erkek hem bayan kontrol grubunda polimorfizm saptanmadı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile cinsiyete göre; *COL11A1*rs4907986 polimorfizminin OA' e etkisini sorguladık. Hasta grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,251; p>0,05). Aynı şekilde kontrol grubunda da cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,161; p>0,05). Hasta ve kontrol grubu arasında da cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (P=0,305; p>0,05). Aynı şekilde rs1241164 polimorfizm için hasta grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında borderline significance (sınırdan anlamlı) olarak bulunurken (P=0,07; p>0,05), kontrol grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,767; p>0,05). Hasta ve kontrol grubu arasında da cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (P=0,397; p>0,05).Ancak, rs1241164 polimorfizmi için hem hasta hemde kontrol grubunda herhangi bir erkek hastada polimorfizme rastlanmadı.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *VEGF* geninin rs833058 polimorfizm dağılımı tablo 9' de verilmiştir.

Tablo 9. *VEGF* geninin rs 833058 polimorfizm dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
VEGF	rs833058	Hasta (n=100)	28 (%28)	52 (%52)	20 (%20)
		Kontrol (n=100)	35 (%35)	45 (%45)	20 (%20)

VEGF geninin rs833058 polimorfizmi 100 hasta ve 100 kontrol olgusunda çalışıldı.

İncelenen 100 hasta grubunda rs833058 polimorfizmi; 28 (%28) hasta homozigot, 52 (%52) hasta heterozigot, 20 (%20) hasta polimorfik olarak saptandı.

100 kontrol grubunda ise 35 (%35) hasta homozigot, 45 (%45) hasta heterozigot, 20 (%20) hasta polimorfik olarak saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile *VEGF* geninin rs833058 polimorfizminin OA' e etkisini sorguladık. Hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,465; p>0,005). Ancak rs833058 polimorfizmi hasta ve kontrol grubunda eşit sayıda hastada polimorfizm gösterdi.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *VEGF* geninin rs833058 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı tablo 10' de verilmiştir.

Tablo 10. *VEGF* geninin rs 833058 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
rs833058	Hasta (n=100)	Kadın	20 (%24,4)	43 (%52,4)	19 (%23,2)
		Erkek	8 (%44,4)	9 (%50)	1 (%5,6)
	Kontrol (n=100)	Kadın	30 (%39)	34 (%44,2)	13 (%16,8)
		Erkek	12 (%52,2)	9 (%47,8)	7 (%30,4)

İncelenen 100 hasta grubunda cinsiyete göre rs833058 polimorfizmi; 20 (%24,4) bayan hasta homozigot, 43 (%52,4) bayan hasta heterozigot, 19 (%23,2) bayan hasta polimorfikken, 8 (%44,4) erkek hasta homozigot, 9 (%50) erkek hasta heterozigot, 3

(%5,6) erkek hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 30 (%39) bayan hasta homozigot, 34 (%44,2) bayan hasta heterozigot, 13 (%16,8) bayan hasta polimorfikken, 12 (%52,2) erkek hasta homozigot, 9 (%47,8) erkek hasta heterozigot, 7 (%30,4) erkek hasta polimorfik olarak saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile cinsiyete göre *VEGF* geninin rs833058 polimorfizminin OA'ye etkisini sorguladık. Hasta grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,132; p>0,05). Aynı şekilde kontrol grubunda da cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,202; p>0,05). Hasta ve kontrol grubu arasında da cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (P=0,981; p>0,05). Ancak, rs833058 polimorfizmi erkeklerde kontrol grubunda hasta gruba göre daha fazla polimorfizm gösterdi.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *GDF5* geninin rs143383 polimorfizm dağılımı tablo 11' de verilmiştir.

Tablo 11. *GDF5* geninin rs143383 polimorfizm dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
<i>GDF5</i>	rs143383	Hasta (n=100)	19 (%28)	48 (%52)	33 (%20)
		Kontrol (n=100)	27 (%35)	47 (%45)	26 (%20)

GDF5 geninin rs143383 polimorfizmi 100 hasta ve 100 kontrol olgusunda çalışıldı.

İncelenen 100 hasta grubunda rs143383 polimorfizmi; 19 (%19) hasta homozigot, 48 (%48) hasta heterozigot, 33 (%33) hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 27 (%27) hasta homozigot, 47 (%47) hasta heterozigot, 26 (%26) hasta polimorfik olarak saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile *GDF5* geninin rs143383 polimorfizminin OA' e etkisini sorguladık. Hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (P=0,268; p>0,05). Ancak rs143383 polimorfizmi hasta grubunda polimorfik hasta sayısı homozigot hasta sayısına göre fazlaydı.

Tüm genler karşılaştırıldığında tüm gruplarda heterozigot hasta sayısı fazla idi. Ancak *GDF5*rs143383 polimorfizminde *COL11A1* ve *VEGF* genlerinin polimorfizmleriyle karşılaştırıldığında polimorfik hasta sayısı çok daha fazla olarak bulundu.

OA hasta grubu ve kontrol grubunun *GDF5* geninin rs143383 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı tablo 12' de verilmiştir.

Tablo 12. *GDF5* geninin rs143383 polimorfizminin cinsiyete göre dağılımı (hasta sayısı - %)

			Homozigot	Heterozigot	Polimorfik
rs143383	Hasta (n=100)	Kadın	15 (%18,3)	42 (%51,2)	25 (%30,5)
		Erkek	4 (%22,2)	6 (%33,3)	8 (%44,5)
	Kontrol (n=100)	Kadın	20 (%26)	35 (%45,5)	22 (%28,6)
		Erkek	7 (%30,4)	12 (%52,2)	4 (%17,4)

İncelenen 100 hasta grubunda cinsiyete göre rs143383 polimorfizmi; 15 (%18,3) bayan hasta homozigot, 42 (%51,2) bayan hasta heterozigot, 25 (%30,5) bayan hasta polimorfikken, 4 (%22,2) erkek hasta homozigot, 6 (%33,3) erkek hasta heterozigot, 8 (%44,5) erkek hasta polimorfik olarak saptandı. 100 kontrol grubunda ise 20 (%26) bayan hasta homozigot, 35 (%45,5) bayan hasta heterozigot, 22 (%28,6) bayan hasta

polimorfikken, 7 (%30,4) erkek hasta homozigot, 12 (%52,2) erkek hasta heterozigot, 4 (%17,4) erkek hasta polimorfik olarak saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar ile cinsiyete göre *GDF5* geninin rs143383 polimorfizminin OA' e etkisini sorguladık. Hasta grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. ($P=0,395$; $p>0,05$). Aynı şekilde kontrol grubunda da cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. ($P=0,562$; $p>0,05$). Hasta ve kontrol grubu arasında da cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($P=0,902$; $p>0,05$). Ancak, rs143383 polimorfizmi hem hasta grubu hemde kontrol grubunda polimorfik bayan hasta sayısı homozigot bayan hasta sayısına göre daha fazla bulundu. Ayrıca tüm polimorfizmler karşılaştırıldığında hem hasta hem kontrol grubunda her iki cinstede en fazla polimorfik hasta sayısı rs143383 polimorfizmde saptandı.

TARTIŞMA

Osteoartrit (OA) degeneratif bir eklem hastalığı olup eklem kıkırdak degenerasyonu ,subkondral kemik sklerozu ve osteofit oluşumu ile birlikte kronik ağrı ,eklem instabilitesi ve sertliğini içeren klinik bulgular ve radyolojik olarak eklem aralığında daralma ile karakterizedir (1).

OA artrit en yaygın formudur ve yaşlılarda hareket kısıtlılığının önde gelen nedenlerindedir, OA genellikle bilinmeyen bir nedenle başlar ve idiyopatik ya da primer olarak tanımlanır. Diz, primer OA'nın en sık görüldüğü eklemdir. Primer diz OA'da hastalığın başlangıcı ile yaşlanma arasında güçlü bir ilişki vardır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ilerlemiş yaşın OA gelişimi için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. OA 25-34 yaş arasında % 0,1 oranında görülürken, 65 yaş üzerinde bu oran % 80'lerin üzerine çıkmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde erişkin popülasyonun %25'inin veya >50 milyon kişinin 2020 yılına kadar OA'den etkileneceği ve 40 yaşın üzerindeki kişilerde morbidite ve fiziksel kısıtlılığın önde gelen nedenlerinden olacağı tahmin edilmektedir. (3).Bu çalışmada hastaların ortalama yaşı hasta grubunda 64,2±7,8 kontrol grubunda ise 62,4±5,8 olup literatür ile uyumlu idi.

OA'in fiziksel fonksiyonlarda ve yaşam kalitesi ,depresyon ile anksiyete üzerine olan etkilerine ek olarak , 2008 yılında 185 milyar doların üzerinde artmış yıllık tıbbi harcamaları içeren önemli bir mali sorun oluşturmuştur (3).

Kadınlarda diz OA gelişme riskinin erkeklerden daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (23). Bu çalışmada ise hastaların % 82'i kadın, % 18'si erkek olup, primer diz OA'nın kadınlarda daha sık görülmesi ve daha ağır seyretmesi ile uyumlu idi.

Obezite ve OA arasında en iyi korelasyon diz ekleminde gösterilmiştir. Diz ekleminde kıkırdak doku daha fazla mekanik yüklenmeye maruz kalmakta ve OA patogenezindeki yapım ve yıkım arasındaki denge bozulmaktadır. VKİ'deki artış diz ekleminde OA gelişme riskini artırmaktadır. Bu çalışmada hastaların ortalama VKİ

değerleri incelendiğinde hasta grubunda $27,20 \pm 3,48$; kontrol grubunda ise $27,94 \pm 4,8$ idi. Bu değerler fazla kilolu grubuna girmekte olup, literatür ile uyumlu idi.

Çalışmanın amacına yönelik, hasta ve kontrol gruplarını tam anlamıyla karşılaştırabilmek için, demografik özellikler (yaş, cinsiyet, VKİ) açısından bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

OA'de genetik faktörlerin etkisi, bilinen çevresel ve demografik faktörlerden bağımsız olarak % 39-65 arasında bulunmuştur (42). Genetik olarak OA riskinde artış, çoklu gen ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (34). Yapılan çalışmalarda elde edilen bu bulgular OA'in büyük ölçüde kalıtsal olduğunu göstermiştir (32). Bu noktadan sonra hangi genlerin bu hastalıkla ilişkili olduğu tartışılmaktadır

OA'de genetik etkinin nasıl geliştiği tartışmalı olmakla birlikte, potansiyel genetik anormalliklerin, yapısal bir defekte ya da kırıldak veya kemik metabolizmasında bir değişikliğe neden olabileceği düşünülmektedir (33).

OA'e yatkınlıkta, özellikle tip II kollajeni ve ekstrasellüler matriksteki diğer yapısal proteinleri kodlayan genler, kemik ve kartilaj büyüme faktörlerini kodlayan genler üzerinde durulmaktadır. Biz çalışmamızda VEGF, GDF-5, COLL11A1 genlerindeki polimorfizmin OA ile ilişkisi üzerinde durduk.

COLL11A1 geni 1p21 lokusunda lokalizedir. *COLL11A1* geni normal iskelet gelişimi için gereklidir. Kas ve ligamentlerin güç ve mukavemetini sağlamada görevlidir. Göz küresinin (vitreus), iç kulak ve omurga (nukleus pulposustaki) 'da omurlar arasındaki disklerin yapısına katılır (61).

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda bu genin *COLL11A1* geninin baskılanmasıyla tip II kollojen fibrogenezisi, kondrosit olgunlaşması ve kemik mineralizasyonunda bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (72).

COLL11A1 geni Lef-1 (lymphocyte enhancer-binding factor 1) tarafından indirekt olarak aktive edilir ve osteoblast maturasyonunun negatif düzenleyicisidir. *COLL11A1* geninin, osteoblastlardan ALP üretimini yavaşlatıp osteoblast farklılaşması ve mineralizasyonu üzerine olan etkisini lef-1'in üzerindeki baskılayıcı etkisi ile gerçekleştirdiği gösterilmiştir (73).

COL11A1'deki mutasyonlar kraniofasial anomaliler, miyopi ve duyma eksikleri gibi bir çok hastalığa neden olabilir. Fonksiyonlarının eksikliği bir çok hastalığa neden olmasına rağmen bu gen ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır (61).

Yapılan bir çalışmada OA ve SNP rs2615977 arasında korelasyon belirlenememiş fakat rs1676486 nin T-allelinde COL11A1 düşük gen ekspresyonu arasında bir ilişki olduğunu belirtilmiştir. OA hastalarının kırıkdağlarından elde ettikleri rs1676486 allel verilerine göre, COL11A1 AEI ya bağlıdır fakat OA için bir risk faktörü olmadığı belirtilmiştir (74).

Yapılan bir metaanaliz çalışmasında diz OA'sı olan 5,636 hasta ve kalça OA'sı olan 4,349 hasta için OA'da aday gen yaklaşımını değerlendirilmiş, diz veya kalça OA'nin daha önce bildirilen 199 OA aday geninden sadece iki aday gen; COL11A1 ve VEGF'ün OA ile belirgin derecede ilişkili olduğunu bulunmuştur. Geri kalan 197 aday gen ile OA arasında anlamlı bir fark bulunamamış (75). COL11A1 geninin Kondrodizplazi fare mutasyonu, Marshall sendromu ve fibrokondrojenesisli hastalarda mutasyon ve lomber disk fitıkları ile ilişkili kırıkdağ matrisinin minör komponenti için önemi birçok yayında gösterilirken, bu metaanalizde OA ile ilişkilendirilen SNP bağımsız olarak gözlenmiştir (75).

Bu çalışma ile uyumlu olarak 5,636 diz OA li hasta ve 16,972 kontrol ve 4,349 kalça OA li hasta ve 17,836 kontrol içeren avrupada yapılan bir başka metaanalizde de kalça OA ile ilişkili analiz edilen 199 OA aday genin sadece 2 sinde COL11A1 ve VEGF de SNPs bulunmuştur (75).

Yapılan bu metaanalizde kalça OA sırasıyla COL11A1 5' ve 3' ucundaki iki SNP, *rs4907986* ve *rs1241164* ile ilişkilendirilmiş ancak *rs2615977* meta analizde güçlü ilişkili olan SNP'ler arasında bulunamamıştır. Cinsiyete göre sınıflandırılan analiz de *COL11A1 SNP rs4908291*'in kadınlardaki ilişkisini göstermiştir (75).

Bu çalışma ile uyumlu olarak COL11A1 SNP'ler için 1,929 İspanyol ve Yunan bireylerden oluşan (OA olan 787 hasta ve 1,142 kontrol kişisi) bir başka çalışmada da,

OA ile önemli bir ilişki gözlenmemiş ancak rs4907986'in kadınlarla ilişkisi gösterilmiştir (75).

Çalışmamızda, primer diz OA nedeniyle total ve unikondiler diz artroplastisi uygulanan 100 kişiyi hasta grubu ve diz ağrısı nedeniyle polikliniğimize başvuran K-L skalasına göre artrozu olmayan 100 kişiyi kontrol grubu olarak kullandık. *COLL11A1* rs4907986 ve rs1241164 polimorfizminin OA'e etkisini sorguladık. *COLL11A1* rs4907986 ve rs1241164 polimorfizmin de hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamayıp literatür ile uyumlu idi. Hastaları cinsiyetlerine göre karşılaştırdığımızda *COLL11A1* rs1241164 polimorfizm için hasta grubunda cinsiyete göre polimorfizm dağılımlarında borderline significance (sınırdan anlamlı) olarak bulunurken, *COLL11A1* rs4907986 polimorfizm için gruplar arası anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak literatür ile uyumlu olarak rs4907986'in hem kadınlarla ilişkisi gösterildi hemde polimorfik kadın sayısı daha fazla bulundu. Ayrıca rs 4907986 polimorfizmi rs1241164 polimorfizme göre hem hasta hem kontrol grubunda daha fazla hastada polimorfizm gösterirken, rs1241164 polimorfizmi için herhangi bir hastada polimorfizme rastlanmadı.

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yerleşmiştir. VEGF sentezinden sorumlu 8 ekzon bölgesi bulunmaktadır; bu bölgelerin farklı birleşimleriyle VEGF izoformları sentezlenmektedir. Farklı izoformlar farklı reseptör afinitelerine ve dolaşımında farklı çözünürlüğe sahiptirler. VEGF etkisini tirozin kinaz reseptörü üzerinden gösterir (62)

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), ilk defa tümörlerin asit sıvısı akımını arttıran bir permeabilite faktörü olarak bulunmuştur ve vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra VEGF bir anjiogenik faktör olarak izole edilmiş ve endotel hücre 31 proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir. Bilinen en potent anjiogenik sitokindir (62,63,64).

VEGF ailesi endotel hücre büyümesi, vaskülogenez ve anjiogenezde önemli bir mediatördür. VEGF sayesinde endotel hücreleri proliferat olmaktadır ve bu büyüme faktörüne doğru göç edip dizilerek yeni damarlar için öncü olan tüp formasyonu oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca kültürlenmiş endotel hücreleri, fibroblastlar,

keratonositler, insan sarkoma hücreleri yada mercek epitelyal hücreleri üzerinde mitojenik etkisi vardır (62,63,64).

VEGF'in bir diğer etkisi de; NO salınımını ve NO aracılı vazodilatasyonu uyarmasıdır. Kemotaktik olaylarda da önemli rolü olduğu gösterilmiştir. VEGF monositler gibi bazı kan hücreleri için güçlü bir kemotaktik ajandır. Enflamasyon esnasında vasküler permeabilityyi; artırabilir. VEGF ile yapılan bazı çalışmalarda; endotel hücrelerden ICAM-1, VCAM-1 ve P selektin gibi önemli bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırdığı görülmüştür (63).

Yapılan metaanalizde OA ile ilgili ikinci aday gen VEGF de tek bir SNP, rs833058 idi(75).

VEGF SNP rs833058 için yapılan bir çalışmada 1,466 kalça OA'lı hasta, 1,263 kontrol kişisi genişletme çalışması ile 5,921 ilave bireyi genotiplenmiş (kalça OA'sı olan 3,303 hasta ve 2,618 kontrol kişisi) ancak. önceki çalışma ile uyumlu olarak erkeklerde belirgin bir ilişki gösterilmemiştir (75).

Çalışmamızda, *VEGF* geninin rs833058 polimorfizminin OA'e etkisini sorguladık. *VEGF* geninin rs833058 polimorfizminin polimorfizmin de hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.. Hastaları cinsiyetlerine göre karşılaştırdığımızda da gruplar arası anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak rs833058 polimorfizmi hasta ve kontrol grubunda eşit sayıda hastada polimorfizm gösterirken rs 833058 polimorfizmi kontrol grubunda hasta grubuna göre daha fazla sayıda erkek hastada polimorfizm gösterdi.

GDF-5, TGF- β süperailisinin bir üyesidir ve kemik morfojenik proteini (BMP) ile yakın ilişkilidir. 20.kromozomun kısa kolunda (20q11.2) yer alan bu gruptaki proteinlerin, hem embriyonik hem erişkin dokularında, hücre büyümesi ve farklılaşması üzerine etkili olduğu bilinmektedir (66). GDF-5 ekstrasellüler işaret molekülüdür, sinoviyal eklem dokularının gelişim, bakım ve tamirinde kritik rol oynar ve GDF-5 eksikliğinin OA patogenezi için önemli risk faktörlerinden biri olduğu belirtilir (67).

Bu büyüme faktörünün ilgili geninde meydana gelen mutasyonların farelerde, iskelet sistemi bozukluklarına ve eklem içi bağlarının gelişim yetersizliğine yol açtığı deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (68). Özellikle eklem morfogenezinde etkin rol aldığı gösterilmiş olup, kıkırdak hücreleri üzerinde aynı zamanda düzenleyici bir etkisi olabileceği düşünülmektedir (69). GDF-5'in tendonlar üzerindeki etkilerinin erişkin dönemde de sürdüğü düşünülmektedir. GDF-5'in fonksiyon bozukluğu ile giden durumlarında kollajen yapısında kusur geliştiği ve dış kuvvetlere daha dayanıksız bir kollajen üretimi ile bağ ve tendonlarda yapısal sorunlar oluştuğu düşünülmektedir (70). GDF-5 mutasyonlu farelerde, apendiküler iskelette ve extremitelerin uzun kemiklerinde azalma, yumuşak doku deformiteleri ve tendon anomalileri olmak üzere bir dizi eklem anomalileri bulundu. Bu bilgiler altında, GDF-5 polimorfizminin OA etiyolojisinde ve patogenezinde önemli fonksiyona sahip olabileceği düşünüldü. Özellikle GDF5 genindeki rs143383 polimorfizm kalça veya diz OA duyarlılığı ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur (76).

Yapılan bir metaanalizde GDF-5'in kondrojenik hücelere olan etkileşimleri üzerine yaptığı çalışmada, GDF5'in eklem yapısında ve eklem kıkırdığı homeostazında önemli bir rol oynadığı, özellikle rs143383 T-aleli artmış OA riskiyle ilişkili olduğu ve kondrojenik hücrelerde transkripsiyon aktivitesinde azalma gösterilmiştir (77).

Furlan-Magaril ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, in vivo allelik ekspresyon verilerinin GDF5 geninin yaşlılarda kıkırdakta istatistiksel olarak C allele göre T allelinde ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir (78).

Sanna, S., Jackson, ve arkadaşlarının yakın zamanda yapılmış olan bir çalışmada GDF5 polimorfizminin hem kadın hemde erkekde insan boy uzunluğu ile ilişkili olarak azaldığı rapor edilmiştir. Bu ilginç veri GDF5'in düşük ekspresyonunun OA'ya duyarlı bireylerin daha sonraki ileriki yaşamlarında ekstremitelerinde kemik büyümesinde azalmayı indüklediği gösterilmiştir (79).

İki kıtaya ait 6 ülkeden 11 213 bireyi içeren 8 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizi sonucuna göre GDF5 rs143383 polimorfizminin OA'e duyarlılığının Asya ırkında Avrupa ırkına göre daha fazla olduğu vurgulanmıştır (80).

Loughlin J ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Allelik ekspresyon imbalansı OA duyarlılığında önemli bir mekanizma olduğunu gösterilmiştir. GDF5 'in 50UTR de lokalize olan SNP rs143383 etnik gruplara bağlı olarak diz OA'tiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. GDF5 in düşük ekspresyonunun kıkırdakta ve eklem dokusunda OA ilişkili T allel polimorfizmine aracılık ettiği rapor edilmiştir (81).

Çalışmamızda, GDF-5 geninin rs143383 polimorfizminin OA'e etkisini sorguladık. GDF-5 geninin rs143383 polimorfizmin de hasta ve kontrol grupları arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Hastaları cinsiyetlerine göre karşılaştırdığımızda da gruplar arası anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak her iki grup diğer OA ile ilişkili genler (COLL11A1 ve VEGF) ile karşılaştırıldığında hem erkek hem kadında polimorfik hasta sayısı en fazla GDF-5 rs143383 polimorfizminde saptandı.

Çalışmamızda kullandığımız OA aday genlerinden elde edilen verilerin ve sonuçlarımızın daha iyi anlaşılabilmesi için, daha çok hasta katılımlı ve daha fazla aday gen polimorfizminin bakılmasının yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hastaların yaş, cinsiyet ve VKİ gibi demografik özellikleri değerlendirildi ve gruplar arası anlamlı fark bulunmadı.
2. *COLL11A1* geninin rs4907986 ve rs1241164, *VEGF* geninin rs 833058 ve *GDF-5* geninin rs143383 polimorfizmlerinin OA' e etkileri bakıldı ve hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi.
3. *COLL11A1* geninin rs1241164 polimorfizmi cinsiyete göre karşılaştırıldığında sınırda anlamlı olarak bulunurken, diğer polimorfizmlerde gruplar arasında cinsiyete göre karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark gözlenmedi.
4. *COLL11A1* geninin rs4907986 polimorfizmi rs1241164 polimorfizme göre daha fazla sayıda polimorfizm gösterirken cinsiyete göre değerlendirildiğinde kadınlarda daha baskındı.
5. *VEGF* geninin rs833058 polimorfizmini her iki grupta eşit hastada polimorfizm gösterirken cinsiyete göre değerlendirildiğinde erkeklerde daha baskındı.
6. *GDF-5* geninin rs143383 polimorfizmini diğer OA ile ilişkili genler (*COLL11A1* ve *VEGF*) ile karşılaştırıldığımızda daha fazla sayıda polimorfizm gösterdi.
7. Sonuçlarımızın daha iyi anlaşılabilmesi ve OA riski olan bireylerin belirlenmesi hedeflenen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi de genetik faktörlerin kullanılabilmesi için daha fazla sayıda hasta katılımı ve başka OA aday gen polimorfizminin değerlendirilmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Wang M, Shen J, Jin H, Im HJ, Sandy J, Chen D. Recent progress in understanding molecular mechanisms of cartilage degeneration during osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1240:61-69.
2. Doral NM, Dönmez G, Atay A, Bozkurt M, Leblebicioğlu G, Üzüncügil A. Dejeneratif eklem hastalıkları TOTBİD Dergisi 2007;6:56-65.2.
3. Kotlarz H, Gunnarsson CL, Fang H, Rizzo JA. Insurer and out-of-pocket costs of osteoarthritis in the US: evidence from national survey data. *Arthritis Rheum* 2009;60(12):3546-53.
4. Di C. Osteoartrit Patogenezi. *Kelley Romatoloji.* Ankara Güneş Kitapevi. 2006;1493-1513.2.
5. Haugh AJ. *Pathology of osteoarthritis.* Philadelphia Lea&Febiger 1993;1699-703.
6. Garnero P, Piperno M, Gineyts E, Christgau S, Delmas P, Vignon E. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage. *Ann rheum Dis* 2001;60(6):619-626.
7. Çimen A. *Anatomi.* Uludağ Üniversitesi Basımevi 2010.
8. Englund M. The role of biomechanics in the initiation and progression of OA of the knee. *Best practice & research Clinical rheumatology* 2010;24(1):39-46.
9. Day B, Mackenzie WG, Shim SS, Leung G. The vascular and nerve supply of the human meniscus, *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association* 1985;1(1):58-62.
10. Taner D. *Fonksiyonel Anatomi.* Hekimler Yayın Birliği 2003.
11. Arnoczky SP, Warren RF. Microvasculature of the human meniscus. *The American journal of sports medicine* 1982;10(2):90-5.

12. Tune N. Romatizmal hastalıklar. Haccetepe Taş Yayıncılık B, Ankara 1994.
13. Sharma L, Kapoor D. Epidemiology of Osteoarthritis, Osteoarthritis; Diagnosis and Medical/Surgical Management. Philadelphia 2007:3-26.
14. Walter G. Knee and Leg Anatomy. Netter's Orthopaedics, Anatomy and Physiology of the Joint 2006:94-106.
15. Mow VC, Wang CC, Hung CT. The extracellular matrix, interstitial fluid and ions as a mechanical signal transducer in articular cartilage. Osteoarthritis Cartilage 1999;7(1):41-58.
16. Pelletier JM. Pathophysiology of osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage 1998;6:3:74-76.
17. West RV, Fu FH. Soft-Tissue Physiology and Repair. Orthopaedic Knowledge Update. Data Trace Publishing Company 2005:15-27.
18. Poole AR, Guilak F, Abramson SB. Etiopathogenesis of Osteoarthritis. Diagnosis and Medical/Surgical Management 2007;14:27-49.
19. Nelson DL, Cox MM. Carbohydrates and Glycobiology Glycoconjugates: Proteoglycans, Glycoproteins and Glycolipids. Lehninger Principles of Biochemistry 2005;14:238-272.
20. Pai YC, Rymer WZ, Chang RW, Sharma L. Effect of age and osteoarthritis on knee Proprioception. Arthritis and rheumatism 1997;40(12):2260-5.
21. Martin JA, Buckwalter JA. Aging, articular cartilage chondrocyte senescence and osteoarthritis. Biogerontology 2002;3(5):257-64.
22. Sharma L, Lou C, Felson DT, Dunlop DD, Kirwan-Mellis G, Hayes KW, Weinrach D ve ark. Laxityin healthy and osteoarthritic knees. Arthritis and rheumatism 1999;42(5):861-70.
23. Srikanth VK, Fryer JL, Zhai G, Winzenberg TM, Hosmer D, Jones G. A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 2005;13(9):769-81.

24. Felson DT, Radinb EL. What causes knee osteoarthritis: are different compartments susceptible to different risk factors?. *J Rheumatology* 1994;21(2):181-3.
25. Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: epidemiology. *Clinical rheumatology* 2006;20(1):3-25.
26. Lawrence JS. Rheumatism in cotton operatives. *British journal of industrial medicine* 1961;18:270-6
27. Hadler NM, Gillings DB, Imbus HR, Levitin PM, Makuc D, Utsinger PD, Yount WJ ve ark. Hand structure and function in an industrial setting. *Arthritis and rheumatism* 1978;21(2):210-20.
28. Lane NE. Physical activity at leisure and risk of osteoarthritis. *Annals of the rheumaticDiseases* 1996;55(9):682-4.
29. Saxon L, Finch C, Bass S. Sports participation, sports injuries and osteoarthritis implications for prevention. *Sports Med* 1999;28(2):123-35.
30. Slemenda C, Brandt KD, Heilman DK, Mazzuca S, Braunstein EM, Katz BP, Wolinsky FD. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. *Annals of internal medicine* 1997;127(2):97-104.
31. Slemenda C, Heilman DK, Brandt KD, Katz BP, Mazzuca SA, Braunstein EM, Byrd D. Reduced quadriceps strength relative to body weight: a risk factor for knee osteoarthritis in women?. *Arthritis and rheumatism* 1998;41(11):1951-9.
32. Hirsch R, Lethbridge-Cejku M, Hanson R, Scott WW Jr, Reichle R, Plato CC, Tobin JD ve ark. Familial aggregation of osteoarthritis: data from the Baltimore Longitudinal Study on Aging. *Arthritis and rheumatism* 1998;41(7):1227-32.
33. Holderbaum D, Haqqi TM, Moskowitz RW. Genetics and osteoarthritis: exposing the iceberg. *Arthritis and rheumatism* 1999;42(3):397-405.
34. Reginato AM, Olsen BR. The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis research* 2002;4(6):337-45.

35. Stecher RM. Heberden's nodes. Heredity in hypertrophic arthritis of the finger joints. *Am J Med Science* 1941;201:801.
36. Stecher RM, Hersh, AH. Heberden's Nodes: The Mechanism of Inheritance in Hypertrophic Arthritis of the Fingers. *The Journal of clinical investigation* 1944;23(5):699-704.
37. Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F. Genetic Factors in Generalized Osteo-Arthrosis. *Annals of the rheumatic diseases* 1963;22:237-55.
38. Ingvarsson T, Stefánsson SE, Hallgrímsdóttir IB, Frigge ML, Jónsson H Jr, Gulcher J, Jónsson H, ve ark. The inheritance of hip osteoarthritis in Iceland. *Arthritis and rheumatism* 2000;43(12):2785-92.
39. Chitnavis J, Sinsheimer JS, Clipsham K, Loughlin J, Sykes B, Burge PD. Genetic influences in end-stage osteoarthritis. Sibling risks of hip and knee replacement for idiopathic osteoarthritis. *The Journal of bone and joint surgery* 1997;79(4):660-4.
40. Cicuttini FM, Spector TD. What is the evidence that osteoarthritis is genetically determined?. *Bailliere's clinical rheumatology* 1997;11(4):657-69.
41. MacGregor AJ, Spector TD. Twins and the genetic architecture of osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38(7):583-8.
42. Spector TD, Cicuttini F, Baker J, Loughlin J, Hart D. Genetic influences on osteoarthritis in women: a twin study. *BMJ* 1996;312(7036):940-3.
43. Zhai G, Hart DJ, Kato BS, MacGregor A, Spector TD. Genetic influence on the progression of radiographic knee osteoarthritis: a longitudinal twin study. *Osteoarthritis and cartilage* 2007;15(2):222-5.
44. Krasnokutsky S, Samuels J, Abramson SB. Osteoarthritis in 2007. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2007;65(3):222-8.

45. Mazzetti I, Grigolo B, Pulsatelli L, Dolzani P, Silvestri T, Roseti L ve ark. Differential roles of nitric oxide and oxygen radicals in chondrocytes affected by osteoarthritis and rheumatoid Arthritis. *Clin Sci* 2001;101(6):593-9.
46. Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T, Chung U, Chikuda H, Yamada T ve ark. Osteoarthritis development in novel experimental Mouse models induced by knee joint instability. *OsteoArthritis and Cartilage* 2005;13(7):632-41.
47. Rousseau JC, Delmas PD. Biological markers in osteoarthritis. *Nat Clin Pract Rheumatology* 2007;3(6):346-56.
48. Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MW. Metalloproteinases, tissue inhibitor and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:181-9.
49. Goldberg VM, Kettelkamp DB, Colger, RA. Osteoarthritis of Knee. *Osteoarthritis WB* 1992;599-620.
50. Henry J, Mankin D. Pathogenesis of Osteoarthritis. *Kelley.s Textbook of Rheumatology* 2001;16: 120-31
51. Sowers M, Jannausch M, Stein E, Jamadar D, Hochberg M, Lachance L. C-reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:595-601.
52. Spector TD, Hart DJ, Nandra D, Doyle DV, Mackillop N, Gallimore JR, ve ark. Low Level increases in serum C-reactive protein are present in early osteoarthritis of the knee and predict progressive disease. *Arthritis Rheum* 1997;40(4):723-7.
53. Kellgren JH. Lawrence JS. Radiologic assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1957;16:494-501.
54. Guermazi A, Burstein D, Conaghan P, Eckstein F, Hellio Le Graverand-Gastineau MP, Keen H, ve ark. Imaging in osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2008;34(3):645-87.

55. Dennisson E, Cooper C. Osteoarthritis: Epidemiology and classification', In Rheumatology 2003;147-51.
56. Dougados M. Ekstremitte Osteoartritinin Tedavisi, Dördüncü Basım. Rotatıp Kitabevi 2011;1753-1763.
57. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P ve ark. Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis:Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including 104 Therapeutic Trials (ESCISIT). Ann Rheum Dis.2003;62(12):1145-55.
58. Jabs EW, Goble CA. Cutting GR. Macromolecular organization of human centromeric regions reveals high-frequency,polymorphic macro DNA repeats. Proc Natl Acad Sci U S A 1989; 86(1):202-6.
59. Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO. Ve ark. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa:multiple causes for lactase persistence?. Hum genet 2007;120(6):779-88.
60. Christensen R, Bartels EM, Astrup A, Bliddal H. Effect of weight reduction in obese patients diagnosed with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. Ann Rheum Dis. 2007;66(4):433-9.
61. Kahler RA, Westendorf JJ. Lymphoid enhancer factor-1 and beta-catenin inhibit Runx2-dependent transcriptional activation of the osteocalcin promoter. J. Biol. Chem, 2003;278:11937–11944.
62. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. Pharmacol Rev2004;56:549-580.
63. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (Vegf):Reseptörleri Ve Fonksiyonları. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2007;29(3):128-136.
64. Bren EC. VEGF in Biological Control. J Cell Biochem. 2007;102:1358-67.

65. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998;92:735–45.
66. Wheeler D, Srinivasan M, Egholm M, Shen Y, Chen L, McGuire A ve ark. National Center for Biotechnology Information, DNA and Gene Database 2008;452:872-876.
67. Thomas JT, Lin K, Nandedkar M, Camargo M, Cervenka J, Luyten FP. A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. *Nat Genet* 1996;12:315–317.
68. Harada M, Takahara M, Zhe P, Otsuji M, Iuchi Y, Takagi M, ve ark. Developmental failure of the intra-articular ligaments in mice with absence of growth differentiation factor 5. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:468–474.
69. Sandell L. Etiology of osteoarthritis: genetics and synovial joint development. *Nat. Rev. Rheum* 2012;8:77-89.
70. Mikic B, Schalet BJ, Clark RT, Gaschen V, Hunziker EB. GDF-5 deficiency in mice alters the ultrastructure, mechanical properties and composition of the Achilles tendon. *J Orthop Res* 2001;19(3):365-71.
71. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis.* 1957;16(4):494-502.
72. Seegmiller R, Fraser FC, Sheldon H. A new chondrodystrophic mutant in mice. Electron microscopy of normal and abnormal chondrogenesis. *J. Cell Biol* 1971;48:580–593.
73. Kahler RA, Westendorf JJ. Lymphoid enhancer factor-1 and beta-catenin inhibit Runx2-dependent transcriptional activation of the osteocalcin promoter. *J Biol Chem.* 2003;278:11937–11944.
74. Raine EV, Dodd AW, Reynard LN, Loughlin J. Allelic expression analysis of the osteoarthritis susceptibility gene COL11A1 in human joint tissues. *Musculoskeletal Disorder* 2013;2474:14-85.

75. Rodriguez-Fontenla C, Calaza M, Evangelou E, Valdes AM, Arden N, Blanco FJ ve ark. Assessment of Osteoarthritis Candidate Genes ina Meta-Analysis of Nine Genome-Wide Association Studies. *Arthritis Rheumatology* 2014;66(4):940-949.
76. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S ve ark. Functional polymorphism in the 5'-UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nat. Genet* 2007;39:529-533.
77. Pan F, Tian J, Winzenberg T, Ding C, Jones G. Association between *GDF5* rs143383 polymorphism and knee osteoarthritis: an updated meta-analysis based on 23,995 subjects. *BMC Musculoskelet Disord* 2014;15: 404.
78. Furlan-Magaril M, Rebollar E, Guerrero G, Fernández A, Moltó E, González-Buendía E ve ark. An insulator embedded in the chicken α -globin locus regulates chromatin domain configuration and differential gene expression. *Nucleic Acids Res* 2011;39:89–103.
79. Sanna S, Jackson AU, Nagaraja R, Willer CJ, Chen WM, Bonnycastle LL ve ark. Common variants in the GDF5-UQC region are associated with variation in human height. *Nat Genet* 2008;40:198-203.
80. Chapman K, Takahashi A, Meulenbelt I, Watson C, Rodriguez-Lopez J, Egli R ve ark. A meta-analysis of European and Asian cohorts reveals a global role of a functional SNP in the 5' UTR of GDF5 with osteoarthritis susceptibility. *Hum Mol Genet* 2008;17(10):1497-504.
81. Loughlin J. Genetics of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatology* 2011;23:479–483.

