



T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

OSTEOARTRİTLİ HASTALARIN SİNOVYAL SIVILARINDAKİ
MİKRORNA-129-3P EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Sıla Hidayet BOZDOĞAN POLAT
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran DARIYERLİ

İSTANBUL-2018



Bu tez, TTU-2017-27416 kodlu proje olarak İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nuran Darıyerli'ye, eğitimim boyunca tecrübelerinden faydalandığım sevgili hocam Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülderem Şahin'e, laboratuvar çalışmalarım sırasındaki katkılarından dolayı Prof. Dr. Hafize Uzun'a, eğitimime yaptıkları katkılar için anabilim dalımızdaki tüm hocalarıma, materyal toplama aşamasında verdiği desteğin yanı sıra tıp eğitimim, uzmanlık sınavına hazırlık dönemim ve asistanlık dönemim gibi zorlu süreçlerde hep yanımda olup beni desteklediği için hayattaki en büyük şansım sevgili eşim Dr. Abdulkadir Polat'a, birlikte çalışmaktan onur duyduğum anabilim dalı uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma ve diğer çalışanlarına, değerli arkadaşım Dr. Mukaddes Pala'ya, kardeşim Av. Ozan Mehmet Bozdoğan'a, emek ve sevgiyle bizi yetiştiren anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Sıla Hidayet Bozdoğan Polat

II

İTHAF

Oğlum Mete Seyit Polat'a ithaf ediyorum.



İÇİNDEKİLER

BÖLÜM	Sayfa Numarası
TEŞEKKÜR.....	I
İTHAF	II
İÇİNDEKİLER.....	III-IV
TABLolar LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR ve SEMBOLLER LİSTESİ	VII-VIII
ÖZET	1
SUMMARY.....	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Osteoartritte Etkilenen Yapıların Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri.....	7
2.1.1. Diz Eklemi Anatomik Yapısı.....	7
2.1.2. Eklem Kıkırdağının Fizyolojisi	9
2.1.3. Kondrosit Yapı ve Fonksiyonu.....	11
2.1.4. Kıkırdak Matriksi: Yapı ve Fonksiyonu	14
2.1.5. Osteokondral Plak: Yapı ve Fonksiyonu	17
2.1.6. Kemik Fizyolojisi.....	18
2.1.7. Subkondral Kemik Fizyolojisi.....	19
2.2. Osteoartrit.....	19
2.2.1. Tanım.....	19
2.2.2. Epidemiyoloji	20
2.2.3. Patogenez.....	21
2.2.3.1. Kıkırdak Matriks Rejenerasyonu ve Yıkımı	21
2.2.3.2. Subkondral Kemik Patofizyolojisi	24
2.2.3.3. Sinovya	25
2.2.4. Tanı	26
2.2.5. Risk Faktörleri.....	28
2.2.6. Klinik Bulgular	28
2.2.7. Görüntüleme	29
2.2.8. Tedavi	29

2.3. MikroRNA	30
2.3.1. MikroRNA Biyogenezi	32
2.3.2. OA ile İlişkili MikroRNA'lar	34
2.3.3. IL-17	35
2.3.4. Osteopontin	35
2.3.5. miRNA-129-3p	36
3. MATERYAL ve METOD	38
3.1. Yöntem	38
3.2. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesi	39
3.3. Total RNA İzolasyonu	43
3.4. Komplementer DNA Sentezi	45
3.5. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesine Hazırlık	45
3.6. İstatistiksel Analiz Metodu	46
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	84

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa numarası

Tablo 1: Osteoartritin vücudun çeşitli eklemlerinde görülen belirti ve semptomları ...	27
Tablo 2: Osteoartrit için risk faktörleri	28
Tablo 3: Kellgren-Lawrence radyolojik evrelemesi.....	39
Tablo 4: Outerbridge sınıflaması.....	39
Tablo 5: PCR'da kullanılan primer dizileri	46
Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen verilerin ortalama \pm standart sapma, medyan ve p değerleri.....	47
Tablo 7: Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre yüzde dağılımları	48
Tablo 8: Erkeklerde ve VKİ 25-29,9 arasında olan kişilerde ΔCT değerlerinin karşılaştırılması, ortalama \pm standart sapma ve medyan değerleri	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Fleksiyonda diz eklemnin anteriordan görünüşü.....	8
Şekil 2: Diz eklemnin posteriordan görünüşü	8
Şekil 3: Hyalin kıkırdığın 3 boyutlu histolojik görüntüsü ve lamellar dizilimi	10
Şekil 4: Proteoglikanlar	16
Şekil 5: Direk radyografide OA'lı hastaların bulguları	29
Şekil 6: MikroRNA biyogenezi ve fonksiyonları	31
Şekil 7: MikroRNA biyogenezi.....	33
Şekil 8: Diz Osteoartriti ile ilişkili mikroRNA'lar	34
Şekil 9: Hayali bir RT-PCR sonucu grafiği	42
Şekil 10: RT-PCR sonucunun görece değerlendirmesi için kullanılan formül	43
Şekil 11: Hasta ve kontrol gruplarının Δ CT değerlerinin karşılaştırılması	48
Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamalarının karşılaştırılması	49
Şekil 13: Hasta ve kontrol gruplarında VKİ'lerinin karşılaştırılması	50
Şekil 14: Hasta ve kontrol gruplarının CRP ortalamalarının karşılaştırılması.....	52

KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

ADAM: Disintegrin ve metallopeptidaz domaini

ADAMTS5: Disintegrinmetalloproteinaz trombospondin motif 5

Ago: Argonaute

BMP: Kemik morfojenik protein

BT: Bilgisayarlı tomografi

Cart-1: Kıkırdak homeoprotein 1

cDNA: Komplementer DNA

CILP: Kıkırdak arakat proteini

COMP: Kıkırdak oligomerik proteini

CP110: Sentiolar sarılı halka protein 110 kDa

DGCR8: Di George Critical Region 8

DKK-1: Dickopff protein-1

DNA: Deoksiribonükleik asit

EGFR: Epidermal büyüme faktör reseptörü

Erb: Tirozin kinaz reseptörü

Ets: ETS protoonkogen transkripsiyon faktör

FGF: Fibroblast growth factor

HIF-1 α : Hipoksinin indüklediği faktör bir alfa

IFN γ : İnterferon gama

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

IGFBP5: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 5

IL: İnterlökin

JNK: c-Jun N-terminal kinaz

K-L: Kellgren-Lawrence

MAPK: Mitojen aktive edici kinaz

mİREB: Elüsyon tamponu

mİRLys buffer: Lizis tamponu

miRNA: Mikro ribonükleik asit

mİRW: Yıkama tamponu

MMP: Matriks metalloproteinazları

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

mRNA: Mesajcı RNA

NSAİ: Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar

OA: Osteoartrit

ÖÇB: Ön çapraz bağ

OPN: Osteopontin

ORF: Açık okuma penceresi

PRELP: Arjininden ve lösinden zengin tekrar proteini

PTHrP: Paratiroid hormon ile ilişkili protein

RISC: RNA ile tetiklenen sessizleştirici kompleks

RNA: Ribonükleik asit

RT-PCR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

VIII

RUNX: Runt ile ilgili transkripsiyon faktörü

Sox: Cinsiyet belirleyici bölge Y kutuları

TCR: T hücre reseptörü

TDA: Total diz artroplastisi

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü beta

TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa

CT: Döngü eşiği

TRBP: Transaktivasyon cevabı oluşturan RNA bağlanma proteini

TRPV: Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı

USG: Ultrasonografi

VKİ: Vücut kitle indeksi

XPO5: Ekspartin 5



ÖZET

Bozdoğan Polat SH. Osteoartritli Hastaların Sinovyal Sıvılarındaki miR-129-3p Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2018.

Giriş: Osteoartrit (OA) kronik inflamasyonun eşlik ettiği, kıkırdak hasarı ile seyreden, hareket kısıtlılığına sebep olan en yaygın dejeneratif bir eklem hastalığıdır. OA başlangıcında ve ilerlemesinde yer alan moleküler mekanizmalar yeterince anlaşılmadığından, bozulmuş kıkırdağın yeniden düzenlenmesi için uygulanan tedavi metodları yeterli değildir.

Amaç: Çalışmamızda ileri evre primer diz OA'lı hastaların sinovyal sıvılarındaki miR-129-3p ekspresyonunun OA bulgusu ve kıkırdak hasarı bulunmayan ön çapraz bağ (ÖÇB) rüptürlü hastaların sinovyal sıvılarına göre kat değişimi değerlendirildi. Böylelikle OA patofizyolojisinde altta yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılması ile yeni tanı, takip ve tedavi modalitelerinin geliştirilmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem: İleri evre primer diz OA'lı 31 hastanın total diz artroplastisi esnasında ve kıkırdak hasarı bulunmayan ÖÇB rüptürlü 13 hastanın artroskopik rekonstruksiyon esnasında sinovyal sıvıları alındı. 3000 g'de 5 dakika santrifüjden sonra süpernatant alınarak deney gününe kadar -80° C soğutucuda saklandı. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile miRNA-129-3p ekspresyonu incelendi. RNU44 molekülü referans olarak kullanıldı. Moleküllerin ekspresyon farkları $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu ile hesaplandı. Gen ekspresyonundaki değişimler kontrol grubuna göre kat değişimi olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz "Mann-Whitney U" testi ile yapıldı.

Bulgular: Kat değişimi ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) 1,54 olarak bulundu. miRNA-129-3p ekspresyonunun OA'lı hastaların sinovyal sıvılarında ÖÇB rüptürlü hastalara göre anlamlı oranda arttığı saptandı (p=0,01).

Sonuç: Bulgularımıza göre miR-129-3p'nin OA da dejenerasyona yol açan mekanizmalarda kilit rol oynadığı düşünülmektedir. miR-129-3p'yi kıkırdak hasarını gösteren bir biyomarker veya tedavi hedefi olarak kullanabilmek için prospektif daha geniş kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Osteoartrit, miRNA-129-3p, RT PCR

SUMMARY

Bozdoğan Polat SH. Evaluation of miR-129-3p Expressions in Synovial Fluids of Patients with Osteoarthritis. Istanbul University-Cerrahpasa Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Physiology. Thesis in Medicine. Istanbul. 2018.

Introduction: Osteoarthritis (OA) is a degenerative disease which is accompanied by chronic inflammation, with cartilage damage, causing limitation of movement and common in the community. The molecular mechanism is not fully elucidated and there is no treatment option that improves joint function.

Objective: The aim of this study was to investigate the role of miR-129-3p expression in synovial fluids in patients with primary knee OA and patients with anterior cruciate ligament (ACL) rupture without any cartilage damage. Thus, we aimed to clarify the underlying molecular mechanisms in OA pathophysiology and to develop new diagnostic and treatment modalities.

Materials and methods: Synovial fluid samples were collected from 31 patients with advanced knee osteoarthritis during total knee arthroplasty and from 13 patients with ACL rupture who had no cartilage damage during arthroscopic reconstruction. Samples were collected after centrifuge and stored in a -80°C cooler. miR-129-3p expressions were examined with RT-PCR. The RNU44 molecule was used as reference. The $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method was used to calculate the expression of molecules. Statistical comparison was performed using 'Mann-Whitney U' test.

Results: miR-129-3p expression was significantly increased in OA patients compared to patients with ACL rupture ($p = 0.01$). Fold change ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) was 1,54.

Conclusion: It is thought that miR-129-3p plays a key role in the mechanisms leading to degeneration of cartilage. Extensive studies are required to use the miR-129-3p as a biomarker or treatment target for OA.

Key Words: Osteoarthritis, miRNA-129-3p, RT-PCR

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Osteoartrit (OA), eklem kıkırdağı yıkımı, sinovyal membran inflamasyonu ve subkondral kemik yeniden şekillenmesi ile karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır (1). OA popülasyonun %15'ini etkileyen ve artrit çeşitleri içinde en sık görülen formdur (2). Genellikle alt ekstremitede, özellikle diz ve kalça ekleminde sık görülür.

Diz osteoartritinin hayat boyu görülme sıklığı erkeklerde %40, kadınlarda ise %47 olarak saptanmıştır. Ayrıca vücut kitle indeksi (VKİ) ≥ 30 olan kişilerde görülme riski %60 oranında artmaktadır (3).

Eklem kıkırdağı su, kollajen, proteoglikan ve diğer kollajen olmayan proteinlerden oluşur. Normal eklem kıkırdağının yüksek su içeriği, kollajen çerçevesi içindeki proteoglikanların hidrofilik yapısı ile korunur. Kıkırdak matriksindeki kondrositler matriksin oluşturulmasından ve sürdürülmesinden sorumludur. Eklem kıkırdağı avasküler olduğundan kondrositler sinoviyal sıvı difüzyonu ile beslenir. Canlılığı sürdürmek için kondrositlere doğru miktarda mekanik uyarı gerekir. Çok az veya çok fazla yüklenme kondrosit disfonksiyonuna ve kıkırdak dejenerasyonuna yol açar (7, 8). Yürüme sırasında tibia yüzeyindeki kuvvetler vücut ağırlığının 2-3 katı kadardır ve maksimum vücut ağırlığının 4 katına ulaşabilir (4, 5). Eklem üzerindeki yük, kıkırdak matriksinin yanı sıra hücreler üzerine doğrudan gerim uygular ve sinoviyal sıvı dokudan içeriye itildikçe hidrostatik basınç ve ozmolaritede değişikliklere neden olur (6). Yükün derecesi, sıklığı ve süresi, kıkırdak yapısını etkiler. Anormal eklem yüklenmesi kıkırdak yapısını bozarak apoptoza sebep olur (9, 10).

Millward-Sadler ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2000), siklik mekanik stimülasyonun sağlıklı kondrositlerde membran hiperpolarizasyonu, proteoglikan agregasının arttırılması ve matriks metalloproteinaz 3'ün azaltılması gibi OA kıkırdağındaki kondrositlerde bulunmayan yanıtları indüklediği gösterilmiştir (11). Hatta aynı mekanik uyarım OA kondrositlerinde karşıt tepkiyi, membran depolarizasyonunu indüklemiştir. Bu hiperpolarizasyon veya depolarizasyon cevabının, mekano-iletme dahil olduğu düşünülmektedir (11).

OA sürecinde kıkırdak dokuda meydana gelen biyomekanik ve biyokimyasal onarım bozulmuştur. Kıkırdak hasarının erken döneminde matrikste büyüme faktörleri ve kondrositler kümelenerek onarımı sağlamaya çalışırken, ilerleyen dönemde matriks metalloproteinazların ve agreganazların etkisi ile balans sağlanamaz ve onarım gerçekleştirilemez (12, 13). Kronik sinovyal inflamasyon şişlik ve ağrıya neden olur (14). Tüm bunların yanında subkondral kemikteki değişiklikler OA patogenezinde esas rol oynar. Özellikle osteofit oluşu-

mu, subkondral skleroz ve kondral aşınma radyolojik olarak belirgin özelliklerdir. Bu değişiklikler erken dönemden son evre OA'ya kadar her aşamada görülebilir.

OA tanısı sonrası hayat tarzı değişikliği ve farmakolojik tedaviye rağmen devam eden ağrı ile birlikte fonksiyon bozukluğu görülen hastalarda cerrahi tedavi endikasyonu vardır. Diz OA'sı sonrası en sık uygulanan cerrahi prosedür total diz artroplastisidir (TDA). Eklem replasmanı sonrası ağrı düzeyinde ve fonksiyonel kapasitede dramatik düzelme ve yaşam kalitesinde artma gözlenmektedir (15). Genç hastaların eklem replasmanı sonrası yaşadıkları en büyük problem uygulanan implant ömürleri dolayısıyla revizyon cerrahisi geçirecek olmalarıdır (16). Yaşlı hastalarda yaşanan sıkıntı ise uygulanacak cerrahi yöntemin mortalite ve morbidite yönünden risk taşımasıdır. Literatürde TDA sonrası post-op 90 günlük takipte mortalite oranı %0.7, pulmoner emboli %0.8 ve yara yeri enfeksiyonu oranı %0.4 olarak bulunmuştur (16). Bu oranlar OA'da konservatif tedavileri etkili kılmak için daha çok çalışma gerektiğini göstermektedir.

Mikro ribonükleik asitler (miR'lar veya miRNA'lar), hem bitki hem de hayvan genomlarında bulunan tek sarmallı kodlamayan RNA molekülleridir. Bunlar tipik olarak 19 ile 25 nükleotid uzunluğunda küçük moleküllerdir. İlk olarak 1990'ların başında Lee ve arkadaşları (*Caenorhabditis elegans*'da) tarafından keşfedilmiştir (17). miRNA'ların hücre farklılaşması, hücre döngüsünün ilerlemesi ve apoptoz gibi çeşitli biyokimyasal yolların düzenlenmesinde anahtar oyuncular oldukları bildirilmiştir (18, 19, 20).

miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun negatif düzenleyicileri olarak işlev görürler. Bu düzenleme, hedef gen mesajcı RNA'sının (mRNA) 3'-çevrilmemiş bölgedeki (3'-UTR) tamamlayıcı tohum dizilerine miRNA'ların bağlanmasıyla gerçekleşir. Böylece mRNA'nın translasyonu baskılanır (21). miRNA fonksiyonları belirginleştikçe, patolojik durumlardaki rollerini anlamaya çalışma çabası artmıştır. miRNA ekspresyon düzeyindeki değişiklikler, çeşitli hastalık süreçleriyle ilişkilendirilmiştir. Şimdiye kadar yapılan birçok araştırma, malignitede miRNA disregülasyonunun rolü üzerine odaklanmıştır, ancak son yıllarda sağlık ve hastalığındaki rollerinin kanserle sınırlı kalmadığı belirgin hale gelmiştir. Özellikle, miRNA'ların OA dahil olmak üzere birçok inflamatuvar süreci etkilediği bilinmektedir (22).

miRNA'lar dokuya spesifiktirler ve periferel kanda RNAaz aktivitesinden korundukları için çeşitli hastalıklarda spesifik tanı ve tedavi amaçlı kullanılabilme potansiyeline sahiptirler (23).

Jones ve arkadaşları (2009), insan kıkırdağındaki diz replasmanları sırasında çıkarılan kemiklerde ve daha önce herhangi bir eklem ağrısı olmayan, ölüm sonrası donörlerden

alınan örneklerde miRNA ekspresyonunu karşılaştırdıkları araştırmalarında, miRNA ve OA ilişkisini gösteren ilk araştırmacılarıdır (24). Sonrasında da OA ve miRNA'lar ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (22).

miR-129-3p glioblastom, renal hücreli karsinom ve hepatoselüler karsinom ile ilişkilendirilmiş bir molekül olarak göze çarpmaktadır (25, 26, 27). Yapılan çalışmalarda metastatik prostat kanseri patogenezinde ve meme kanseri hücrelerinde docataxel direncinde de rolü olduğu gösterilmiştir (28, 29).

OA'da mekanik transformasyon yolunun nasıl değiştiği, kondrositlerin kompresyonu nasıl algıladığı ve buna nasıl tepki verdiği büyük ölçüde bilinmemektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, kondrositin primer silyasının mekanik stimülasyonun saptanmasında ve iletilmesinde rol oynadığını öne sürmüştür (30). Mc Glashan ve arkadaşları (2010) normal kıkırdak hücrelerinde, silya sayısı ve uzunluğunun yüzeysel zonda en düşük olduğunu ve artiküler alandan uzaklaştıkça arttığını, OA dokusunda, aşınan eklem yüzeyinde silyaların insidansının ve uzunluğunun artmış olduğunu bildirmişlerdir. Bu, primer silyaların OA progresyonu boyunca kondrositlerde bulunduğunu ve dejeneratif kıkırdağın içindeki silyal hücrelerin toplam yüzdesinin OA şiddeti ile arttığını gösteren ilk çalışmadır (31).

Cao ve arkadaşları (2012) miR-129-3p'nin silyagenezi CP110 ve aktin dinamikleri üzerinden düzenlendiğini bildirmiştir. CP110 silyagenez blokeridir. Ortamdan uzaklaştırılması silyer aksonemin büyümesini destekler. miR-129-3p'nin, CP110'u azaltarak silya oluşumunu artırdığı ileri sürülmektedir (32).

Tsai ve arkadaşlarının (2017) artrit modelinde yaptıkları çalışmada osteopontin ile osteoblastların stimülasyonu sonrası IL-17'ye bağlanma potansiyeli olan miRNA'lar arasında en çok baskılananın miR-129-3p olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada osteoblastlarda miR-129-3p'nin insan IL-17 geninin 3'-UTR bölgesine bağlanarak doğrudan IL-17 translasyonunu baskıladığı ve monosit migrasyonunu ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (33).

Liu ve arkadaşları sinovya IL-17 düzeylerinin OA hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve OA şiddeti ile negatif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (34). IL-17 artrit kemirgen modellerinde de bir ağrı duyarlaştırıcı olarak bildirilmiştir (35).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar miRNA-129-3p'nin osteoartritin kıkırdak dejenerasyonu ve inflamatuvar kaskadında önemli role sahip olabileceğini göstermektedir ve IL-17 aracılı monosit göçü ile hiperaljzezinin geciktirilmesi ve silya fonksiyonlarının düzenlenmesinde potansiyel miRNA tabanlı tedavi stratejileri hakkında fikir vermektedir. Araştırmamızda mikrodizin çalışmalarında OA ile ilgili literatür bilgisi bulunmayan miR-

129-3p'nin, IL-17-osteopontin ilişkisi ve silyagenezdeki rolü göz önünde bulundurularak, ileri evre OA'lı hastaların sinovyal sıvılarındaki ekspresyon farkını incelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Osteoartritte Etkilenen Yapıların Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri

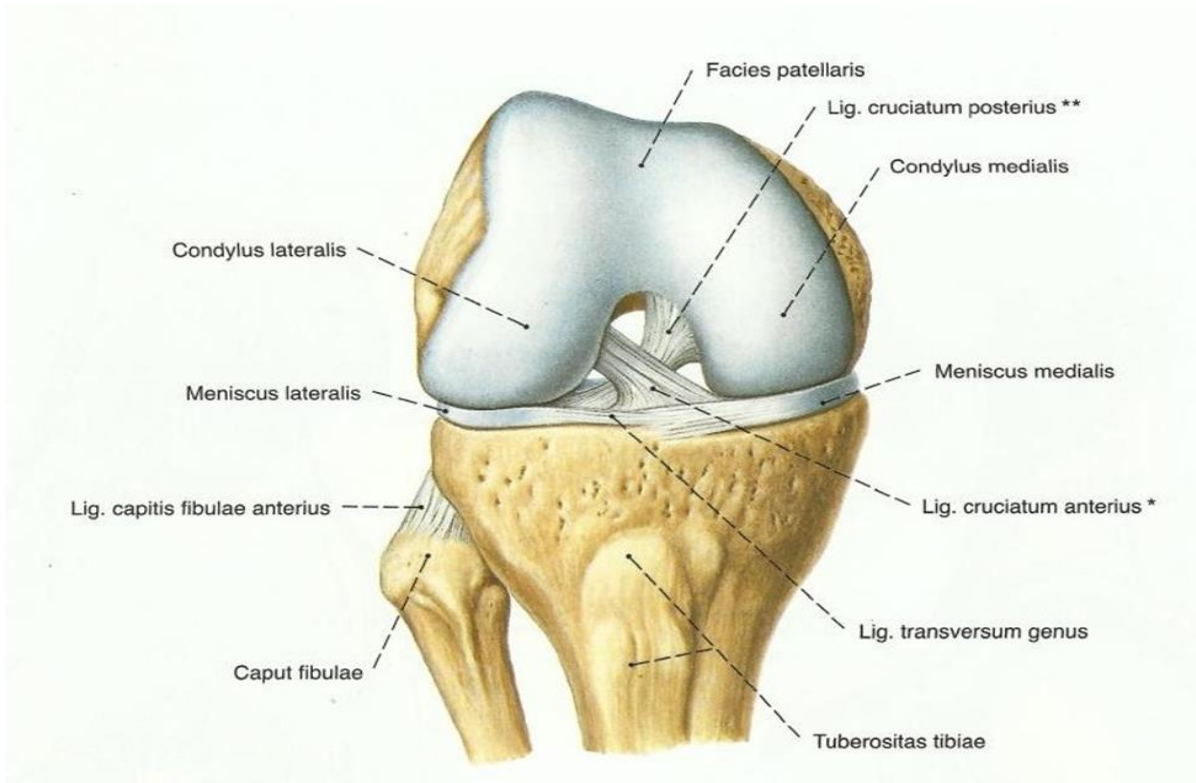
2.1.1. Diz Eklemi Anatomik Yapısı

Diz eklemi vücudun en büyük sinovyal eklemidir (36). Tibiofemoral ve patellofemoral eklemlerden oluşmaktadır. Fibula ise diz eklemine katılmaz. Tibiofemoral eklem yükün femurdan tibiaya iletilmesini sağlayan ve sagittal planda rotasyon hareketini sağlayan iki kondiloid eklemden oluşur (Şekil 1) (36). Sagittal planda ortalama 0-135 derece hareket açıklığına sahiptir (37). Temel sagittal plandaki hareketine ek olarak femoral distal asimetriye bağlı olarak dizin tam ekstansiyondan 20 derece fleksiyona hareketi sırasında lateral kondil daha fazla posteriora yuvarlanma eğilimindedir ve bu dizin rotasyon hareketini oluşturur (38). 20 derece fleksiyondan sonra ise tibia femur üzerinde kayma hareketi yapar (37).

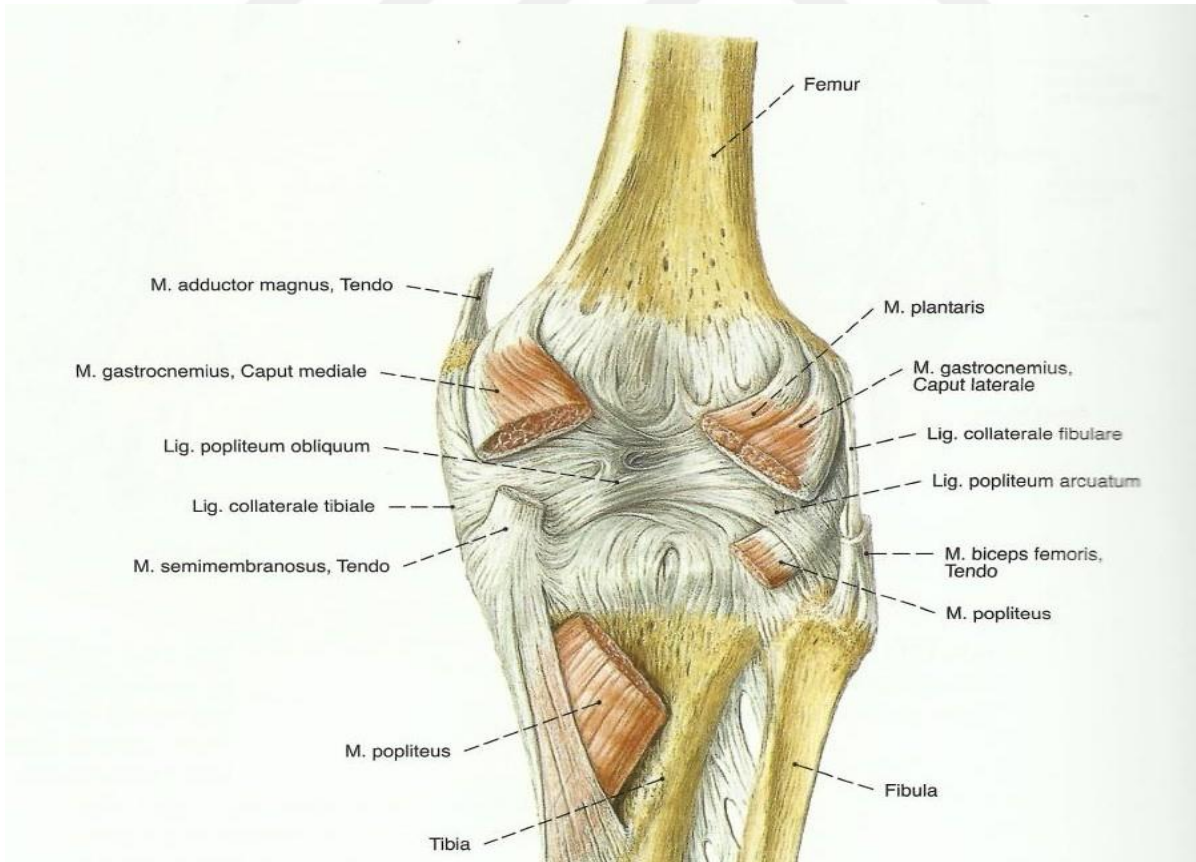
Tam ekstansiyonda femurun tibiaya göre medial rotasyonu nedeniyle diz kilitlenir. Dizin tekrar fleksiyona gelmesi için popliteus kasının kasılarak femuru lateral rotasyona getirmesi gerekir (39).

Tibiofemoral eklemin stabilitesi dinamik ve statik yapılarla sağlanır (40). Dinamik yapılar kaslardır. Statik yapılar ise tibiofemoral ligamentler, menisküsler, artiküler yüzeylerin topografisi ve bu yüzeylere binen yüklerdir (Şekil 2) (41).

Patellofemoral eklem ise quadriceps kasının oluşturduğu konsantrik hareketi tuberositas tibiaya aktarmasının yanı sıra yürüme koşma sırasında eksantrik hareketten de sorumlu olan plana grubu bir eklemdir (36, 40).



Şekil 1: Fleksiyonda diz ekleminin anteriordan görünüşü (Sobotta Anatomi Atlası'ndan (19. Baskı) alınmıştır.)



Şekil 2: Diz ekleminin posteriordan görünüşü (Sobotta Anatomi Atlası'ndan (19. Baskı) alınmıştır.)

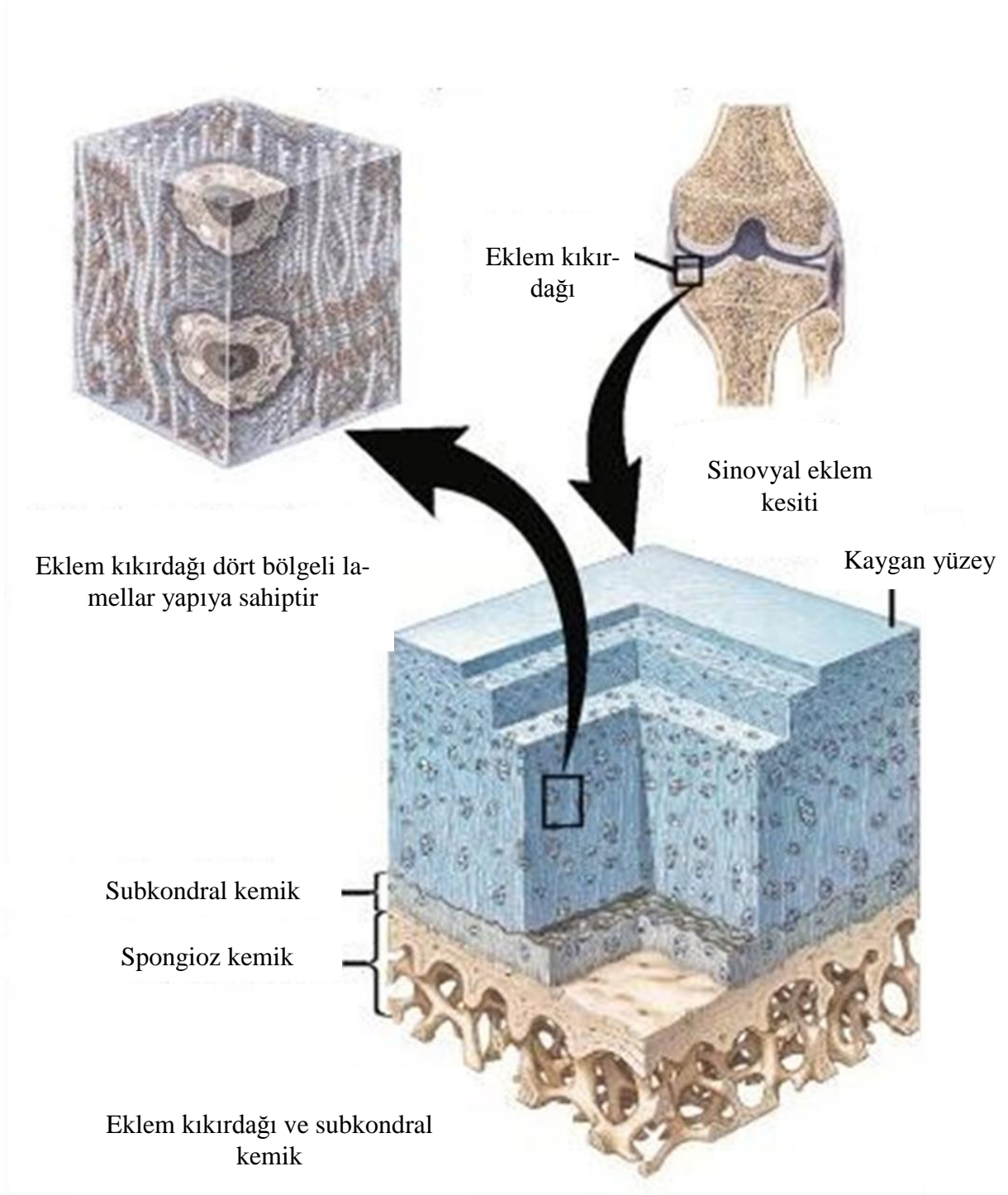
2.1.2. Eklem Kıkırdağının Fizyolojisi

Eklemlerde kemiklerin yüzeylerini örten hyalin kıkırdak yapısındaki dokuya eklem kıkırdağı denir. Eklem kıkırdağının serbest yüzeyi eklem boşluğuna bakarken serbest olmayan yüzeyi subkondral kemik plağına tutunur (42).

Embriyoda kondrositler oluşacak olan kıkırdağın yerleşimine bağlı olarak kraniyal nöral kristadan, sefalik mezodermden, paraksiyal mezodermin sklerotomundan ve lateral plak mezoderminin somatoplevrasından köken alan mezenkimal prekürsörlerden kaynaklanır (43). Kondrosit, kondrogenез olarak isimlendirilen süreçte kıkırdak taslağının matriksini sentezler (43).

Eklem kıkırdağı tek bir hücreli bileşen içermektedir. Bu bileşen karmaşık bir matriks içine gömülmüş olan kondrosittir (43). İmmatür eklem kıkırdağı, olgun hale göre daha kalındır ve tabakalı değildir. İmmatür eklem kıkırdağında kondrositler rastgele dağılır (42). Olgun eklem kıkırdağı dört ayrı zondan oluşan heterojen bir dokudur (Şekil 3). Yatay düzlemde üst üste dizilen bu zonlar aşağıda sıralanmıştır.

1. Süperfişyal tanjansiyel (ya da yüzeysel) zon: Yaklaşık 0,2-0,5 mm kalınlığındadır ve tüm eklem kalınlığının %10-20'sini oluşturur. İki tabakadan meydana gelir. Üstte yer alan lamina splendens, fibriller ve az miktarda polisakkaritten meydana gelir ve hücre içermez. Bunun altında yer alan ana tabaka ise kondrositlerle birlikte yüksek kollajen ve düşük proteoglikan konsantrasyonuna sahip ekstraselüler matriksten meydana gelir (44).
2. Orta (transizyonel) zon: Dokunun %40-60'ını oluşturur.
3. Derin (radyal) zon: Tüm kalınlığın yaklaşık %30'udur. Derin zon ile kalsifiye kıkırdak zonun arasında yumuşak kıvrımlar yapan bazofilik bir hat görülür (42).
4. Kalsifiye kıkırdak zonu: Kıkırdak dokusunu alttaki subkondral kemikten ayırır (42, 43). Kalsifiye zon, endokondral ossifikasyonun bir sonucu olarak ortaya çıkar ve büyüme plağının kapanmasından sonra sınır olarak devamlılığını sürdürür (43, 45). Kalsifiye zon, kalsifiye olmamış eklem kıkırdağı ile subkondral kemik arasında mekanik bir tampon olarak işlev görür (43).



Şekil 3: Hyalin kıkırdağın 3 boyutlu histolojik görüntüsü ve lamellar dizilimi (Netter Histoloji 2009)

2.1.3. Kondrosit Yapı ve Fonksiyonu

Kondrositler kıkırdak dokusunun büyümesinden ve devamlılığının sağlanmasından sorumlu hücrelerdir (42). Kıkırdakta doku hacminin yaklaşık olarak %2'sini kondrositler oluşturur (46).

Kondrogenез sırasında orijinal ekstraselüler matriksi sentezleyip salgılayan kondrosit, bu matriksin içinde kalır. Kondrositin kapladığı hacim nedeniyle matriks içinde oluşan boşluklara *maküla* denir (47). Kondrogenезin sona ermesi ve kısmen de kıkırdak dokusunda damar ve sinir bulunmaması sebebiyle yetişkin kıkırdağı metabolik olarak hipoaktif veya inaktif durumdadır. Yetişkin eklem kıkırdağının kondrositleri tam farklılaşmış hücreler olarak değerlendirilmektedir (43). Bu hücreler matriks bileşenlerinin devamlılığını sağlamak için anabolik ve katabolik süreçler arasında dengeyi sağlayacak şekilde oldukça durağan bir metabolizma sürdürür (48).

Eklem kıkırdağındaki zona bağlı değişiklikler kondrositler arasındaki metabolik farklılıklardan kaynaklanmaktadır ve metabolik farklılıkların nedeni de postnatal mekanik yüküdür. Kıkırdağın farklı zonlarından elde edilen kondrositler kültüre edildiklerinde bile birbirinden farklı morfoloji, proliferasyon hızı ve sentez aktivitesi sergilemektedirler (42, 49, 50). Olgun eklem kıkırdağındaki kondrositler normal homeostazi etkileyen mekanik uyarılara, büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt verme özelliklerini korur (43, 53). Bununla birlikte kondrosit orijinal olarak oluşmuş olan matriksin zon bağımlı üç boyutlu yerleşimini yeniden oluşturmada sınırlı kapasiteye sahiptir ve bu kapasite de yaş ile geriler (43).

Kondrositlerin çapları kıkırdakta buldukları yere göre 7-30 mikrometre arasında değişmektedir (47). Kondrositler mikroskobik olarak protein sentezleyen diferansiye hücrelere özgü iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulumu ve çekirdek aygıtı üzerinde yerleşen golgi aygıtı ile glikojen granülleri içerir (43). Orta ve derin zondaki kondrositler göreceli olarak daha iri sitoplazmalı olup daha iyi gelişmiş endoplazmik retikulumu ve golgi kompleksleri bulundurur. Kıkırdaktaki ana sentez aktivitesi bu iki zondaki kondrositler tarafından gerçekleştirilir (47). Sitoplazmada sıklıkla lipid damlacıkları ve salgı vezikülleri de izlenir (44). Kondrositin hücre iskeleti *aktin*, *tubulin* ve *vimentin* filamanlarından meydana gelir. Filaman içeriği kıkırdak zonlarında farklılık gösterir; yüzeyde hücre yüzey iskeleti bileşenleri daha yoğun olarak bulunmaktadır (54).

Kondrositlerin oksijen tüketim hızı diğer hücre tiplerinden kat kat azdır (56, 58). Kıkırdak tarafından oksijen tüketimi karaciğer ya da böbreğin %2-5'idir. Üretilen laktat miktarı ise zonlar arasında benzerlik göstermektedir. Kondrositler için ana enerji kaynağı olan

glukoz, glikozaminoglikan sentezi için gerekli bir moleküldür (59). Kondrositlerin düşük oksijen tüketimi bu hücrelerde mitokondri sayısının azlığı ile paralellik gösterir (60, 62). Kondrositler gereksinim duydukları enerjinin %95'ini *glukolizden* sağlar ve *glukolizde* ATP üretimi için oksijene ihtiyaç yoktur (63, 64, 65). Enerji metabolizmaları temel olarak glukoz desteğine bağımlı olduğu için kondrositler fazla miktarda mitokondri bulundurmaz ve enerji gereksinimleri mekanik stresle değişir. Kondrositlerde hücre düzeni, enerji, protein dönüşümü, metabolizma ve hücre stresi ile ilgili 93 farklı hücre içi protein tanımlanmıştır (67). Kondrositlerde eklem kıkırdağının matriks bileşenlerinden biri olan hyaluronik asidin sentezlenmesi için hyaluronan sentaz enzimleri, hyaluronanın yıkımı için hyaluronidazlar ve hyaluronana bağlanmak için hyaluronan reseptörü olan CD44 bulunur (68).

Kondrositler ince sitoplazmik uzantılar içerebilir (69, 70). Bu uzantıların kondrositlerin birbirleri ve kıkırdak matriksi arasında etkileşime olanak sağladığı düşünülmektedir (43). Eklem kıkırdağının kondrositlerinde *primer silyum* da bulunmaktadır (71). Bu hareketsiz silyanın mekanik transduksiyonda rol aldığı düşünülmektedir. Dejenere eklem kıkırdağında sayılarının arttığı ve boylarının uzadığı gösterilmiştir (30).

Normal eklem kıkırdağında *HIF-1 α* (*hipoksinin indüklediği faktör*) ekspresyonu derin tabakalardaki fizyolojik hipoksi sırasında artmış proteoglikan sentezi ile ilgili tonik aktivitenin sürdürülmesini sağlar (43, 72). Kondrositler hayatta kalma faktörlerinin (*HIF-1 α* gibi) hücre içi ekspresyonunu ayarlayarak avasküler kıkırdak matriksinde hayatta kalma ve çevre değişikliklerine yanıt verme kapasitesine sahiptir (43).

Eklem kıkırdağı avasküler olduğu için kondrosit, eklem yüzeyinden ya da subkondral kemikten difüzyonla beslenir. Olgun kıkırdaktaki kondrositler Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , H^+ katyonlarının karşılıklı değişimi için aktif membran transport sistemlerini bulundurur. Bu katyonların hücre içi konsantrasyonları, yük ve kıkırdak matriksi içeriğindeki değişiklikler ile dalgalanma gösterir (73).

Kondrositler kıkırdak ekstraselüler matriksindeki yapısal değişikliklere yanıt verir. Matriks kondrositlere içinde tutunabilecekleri bir ağ sağlar; moleküler bileşenleri kondrositlerin yüzey reseptörleri ile etkileşir ve kondrosit fonksiyonlarını düzenleyen sinyaller sağlar (43). Kondrositlere en yakın matriks alanı hücre ile ilişkili *periselüler matriks alanı* olarak adlandırılan ve kondrositin hücre yüzeyine komşu olan zonunda yer alan bazofilik bölgedir. Burada kondrosit yüzey reseptörlerinin aracılık ettiği spesifik hücre-matriks etkileşimleri gerçekleşir (74). Kondrositlerin yüzeylerinde kollajen, fibronektin ve laminin için reseptör görevi gören integrinler bulunmaktadır. İntegrinler hücre proliferasyonunu, diferansiyasyonunu, yaşamsallığı ve matriksin yeniden şekillendirilmesini düzenleyen hücre içi sinyalleri

başlatır. İntegrinler yüke bağlı yanıtlara aracılık eden mekanoreseptörler olarak da fonksiyon görebilir (75-77).

Kondrositlerde *CD44*, *sindekan*, *Ankorin CII* gibi birçok integral membran proteini bulunur (43, 74, 78, 79). *CD44* hyaluronik asit reseptörüdür; kollajen ve fibronektini de bağlar. *CD44*, hyaluronan ile spesifik etkileşimler üzerinden kondrositin periselüler matriks komponentlerinin biraraya gelmesinde, organizasyonunda ve devamlılığının sağlanmasında rol alır (80). Anneksin V olarak da bilinen *Ankorin CII*, integral membran proteinidir ve Tip 2 kollajeni bağlayarak kondrositleri ekstraselüler matrikse sabitler (43, 78, 81). *Sindekan*ların kıkırdak gelişiminde ve homeostazisinde önemli rolleri vardır. *Sindekan*lar büyüme faktörlerini, proteinazları, bunların inhibitörlerini ve diğer bazı matriks moleküllerini bağlar (43).

Yetişkin kondrositin fenotipik stabilitesi, gen ekspresyon profili, çeşitli uyarılara yanıtı, metabolik aktivitesi, sentezlediği matriks tipi ve yerleşim yoğunluğu kıkırdaktaki yerleşim yerine göre farklılık gösterir (42, 51, 52, 82). Yüzeyden derin zona gittikçe hücre yoğunluğu azalır. Derin zonda hücre yoğunluğu süperfisyal zonun üçte biri ya da yarısı oranındadır (42). Kondrositlerin hacmi süperfisyalden derine gidildikçe artar (70). Derin ve orta zondaki kondrositlerin hacmi süperfisyallerin iki katı oranındadır (43). Bu zonalardaki kondrositler kültüre edildiklerinde bol miktarda ekstraselüler matriks sentezler (42). Süperfisyal zonda hücreler yassı ya da disk biçimlidir ve yüzeye paralel dizilir (43). Bu zondaki kondrositler *proteoglikan 4* adı verilen *lubrisin* ya da *süperfisyal zon proteini* olarak da bilinen bir glikoprotein üretir. Eklem kıkırdağının yüzeyindeki kondrositler katabolik medyatörlerin zararlı etkilerine karşı daha duyarlıdır (42). Orta zondaki kondrositler daha büyük ve daha elips şekilli görünürler, uzun eksenleri yüzeye paralel yerleşimlidir ve matrikste rastgele dağılım gösterir (43, 47). Derin zondaki kondrositler elips şekilli veya yuvarlaktır ve 4-8'li hücre grupları şeklinde yüzeye dik sütunlar halinde düzenlenmişlerdir. Kalsifiye zonda hipertrofik kondrositler bulunur (47). Kondrositler sadece kıkırdak zonları arasında değil, aynı zamanda farklı eklemler arasında da farklılık gösterir. Örneğin, diz ekleminden izole edilen kondrositler kıkırdak matriksindeki hasarı arttıran faktörlere ayak bileği ekleminden izole edilen kondrositlere göre daha güçlü yanıt vermektedir (42, 85, 86).

Yetişkin insan femoral kondil kıkırdağının tüm kalınlığındaki hücre yoğunluğunun 14.5×10^3 hücre/mm² olduğu ve 20-30 yaş arasında bu yoğunluğun korunduğu rapor edilmiştir (87).

Kondrositler eklem kıkırdağını avasküler halde tutan spesifik anjiyogenez inhibitörleri de sentezler (88, 89, 90). Bu inhibitörler *troponin I*, *MMP (matriks metalloproteinaz)* inhibitörleri, *kondromodulin-I* ve endostatindir (91, 92).

2.1.4. Kıkırdak Matriksi: Yapı ve Fonksiyonu

Eklem kıkırdağı aynı eklem içinde ve eklemler arasında farklılık göstermekle birlikte aynı temel bileşenlerden meydana gelir (44, 93). Yetişkin eklem kıkırdağının matriksi, kıkırdağa gerilim direnci veren ve kollajen fibrillerinden meydana gelen yoğun bir ağdan, suyu emme ve bırakma yeteneği ile kıkırdağa basınç direnci sağlayan proteoglikan kafesinden ve bu iki yapının arasında yer alan diğer proteinlerden meydana gelen özel bir yapıdır (94). Matriksin zonlara göre değişen yapısı, doku sıvısı ile etkileşimini belirleyerek kıkırdağın mekanik özelliklerini ortaya çıkarır (93).

Eklem kıkırdağı için iki besin kaynağı bulunmaktadır. Bunlar sinovyal sıvı ve subkondral kan damarlarıdır. Sinovyal sıvı eklem kıkırdağı için ana besin kaynağıdır. Sinovyal sıvıdaki besinler difüzyonla ya da baskı-gevşeme döngüleri arasındaki sıvı hareketi ile kıkırdağa girebilir (94, 95). Hemoglobün (65 Kilo dalton (Kd)) kadar büyük moleküller eklem kıkırdağında difüzyona uğrayabilir ve hücre metabolizması için gereken maddeler göreceli olarak düşük molekül ağırlıklıdır (94, 96).

Matriksin içeriği ve düzeni kondrositten uzaklığına göre değişiklik gösterir. Matrikste üç bölge tanımlanmıştır. Bunlar:

1. **Periselüler matriks:** Kondrositin yakın çevresindeki matrikstir.
2. **Territorial matriks:** Periselüler matriksi çevreleyen matriks bölgesidir.
3. **İnterterritorial matriks:** Diğer iki bölgeyi saran matrikstir (47).

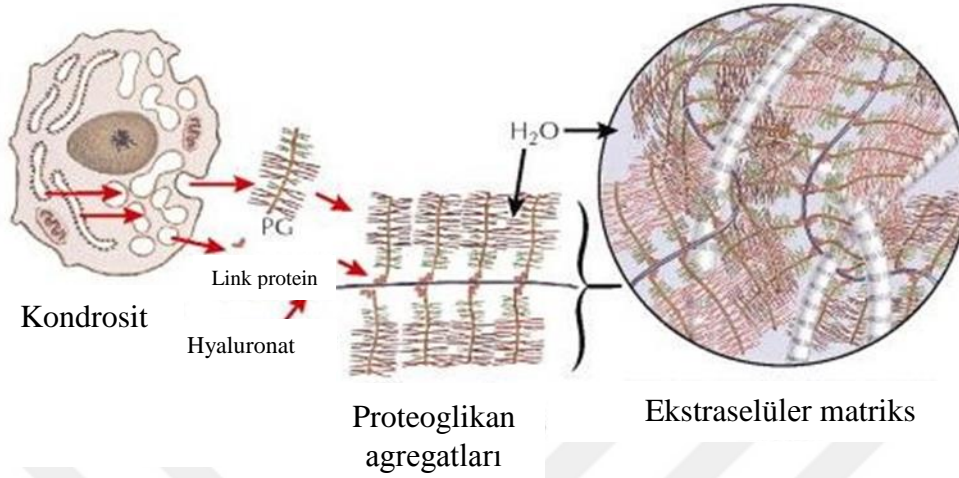
Ekstraselüler matriksin temel bileşeni (%75) sudur (97). Eklem kıkırdağındaki suyun %30'u kollajen yapısındaki ağ ile sıkı ilişki halindedir. Suyun kalan kısmı proteoglikanlar ile ilişkilidir ve ekleme yük binmesi ve yükün kalkması sırasında serbestçe yer değiştirebilir (Şekil 4). Suyun bu hareketi kondrositin canlılığı, beslenmesi ve eklem kayganlığı için önemlidir (47). Ağırlığa maruz kalan bölgelerdeki sıvı diğer kıkırdak bölgelerine aktarılır. Yük ortadan kalktığı anda kıkırdak eski haline dönerek sıvıyı geri çeker ve bu sayede karşılıklı besin ve atık değişimi olur (94, 98). Doku sıvısının diğer bileşenleri katyonlar, gazlar ve küçük proteinlerdir (93). Kıkırdak matriksini oluşturan ve su tutan moleküllerin bölgesel farklılıkları nedeniyle su konsantrasyonu da bölgesel farklılık gösterir (93). Süperfisyal zonen ağırlığının %75-80'i sudur. Bu oran derin bölgelerde %65-70'e kadar düşer (43).

Ekstraselüler matriksin (ECM) makromolekülleri *kollajenler, proteoglikanlar, kollajen olmayan proteinler ve glikoproteinler*dir (44). Organik bileşenler kıkırdağın yaş ağırlığının %20'sini oluşturur. Ağırlıklı olarak tip II kollajen olmak üzere kollajen yaş ağırlığının %15-25'ini ve kuru ağırlığın yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Ağırlıklı olarak agrekan olmak üzere proteoglikanlar yaş ağırlığının %10'unu ve kuru ağırlığın yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır (2). Kıkırdağın kuru ağırlığının çoğu iki bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar tip II kollajen ve bir proteoglikan olan agrekandır. Bunun yanında bazı minör kollajenler ve küçük proteoglikanlar da kıkırdak matriksinin yapısında rol oynarlar (99, 100).

Kondrositler tarafından sentezlenen matrikste ana komponent olarak çapraz bağlı üçlü helikal tip II kollajen fibriller bulunur. Tip II kollajen fibrilleri eklem kıkırdağına yapısal bütünlük ve germe-itme güçlerine karşı direnç sağlar (93). Çapraz bağlı tip II kollajen fibriller negatif yüklü proteoglikan kümelerini yakalayarak doku içine su akımı olduğunda kıkırdağın fazla şişmesini engeller (43, 102, 93). Eklem kıkırdağında bulunan diğer kollajen tipleri olan tip VI, IX, XI, XII ve XIV kollajenler, miktar olarak az olmakla beraber önemli yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Tip IX ve XI kollajen kıkırdağa spesifiktir. Tip VI, XII, XIV kollajenler diğer bağ dokularında da bulunmaktadır (99). Kollajen tip VI kıkırdakta mikrofibriller halinde çok küçük miktarlarda periselüler matrikste bulunur. Eklem kıkırdağında birbirine ve tip II kollajene bağlı şekilde tip III kollajen de bulunmaktadır (104). Tip IX kollajen, tip II kollajenin yüzeyi boyunca çapraz bağlar oluşturur ve tip II kollajen fibrilleri ile proteoglikan kümeleri arasında ara bağlantı olarak fonksiyon görür (93). Bu sayede fibril ağın mekanik stabilitesini artırır ve bu ağ tarafından tutunmakta olan proteoglikanların şişme basıncına direncini artırır (43, 99, 105, 106). Heterotrimerik tip XI kollajen molekülü tip II kollajen ile aynı fibril içine gömülüdür. Tip XI kollajen, fibril çapının ayarlanmasında rol alıyor olabilir. Fibril oluşturmayan kollajenler olan tip XII ve tip XIV yapısal olarak tip IX kollajen ile ilişkilidir ve kollajen fiberlerinin paketlenmesini ayarlar (99, 105, 106). Kalsifiye kıkırdak zonunun yakınında tip X kollajen bulunmaktadır ve bu kollajenin kıkırdak mineralizasyonuna katıldığı düşünülmektedir (93, 107). Kalsifiye zon, tip X kollajen aracılığıyla kıkırdağı kemiğe sabitler (93). Bu zonda yer alan 'sınır', kalsifiye olmuş ve olmamış kıkırdak arasındaki sınırdır (44).

Eklem kıkırdağının ana proteoglikanı *agrekandır* (100). Agrekan büyümenin düzenlenmesinde, hücre tanınmasında, intraselüler trafikte ve ekstraselüler matriksin tanınması, parçalarının biraraya gelmesi, stabilizasyonu ve hidrostatik basıncın oluşturulmasında yer alır (43, 93). Küçük bir glikoprotein olan *bağlantı proteini* agrekan ile hyaluronan arasındaki bağlantıyı stabilize eder (107). Kıkırdakta az miktarda *versikan ve perlekan* proteinleri de

bulunmaktadır. Bunlar esas olarak iskelet gelişimi sırasında fonksiyon görür (109, 110). Yetişkin eklem kıkırdağında perlekan periselüler matrikste daha fazla bulunur ve kondrositin tutunmasını kolaylaştırır (109).



Şekil 4: Proteoglikanlar (Netter Histoloji Atlası 2009)

Proteoglikanların sistein kalıntı paternlerine göre ayrılan alt grupları:

1. Dekorin, biglikan, fibromodulin, ve lumikan
2. Keratokan, prolin ve arginine-rich and leucine-rich repeat protein (PRELP)
3. Kondroadherin
4. Epifikan ve mimekan/osteoglisindir.

Bu proteoglikanlar komşu kollajen fibriller ile çok noktada bağlantı yaparak ağı stabil hale getirirler. *Dekorin* tip II, VI, XII ve XIV kollajenlere, fibronektine ve trombospondine bağlanır (43). Tip II kollajen fibrillerinin yüzeyinde bulunan dekorinin, fibrillerin büyümesini inhibe ettiği düşünülmektedir (93). Süperfisyal zonda dekorin konsantrasyonu yüksek, agregan konsantrasyonu düşüktür. *Biglikan*, *dekorin* ve *fibromodulin*, *TGF- β* (*tumor growth factor*)'ya ve *EGFR* (*Epidermal growth factor*)'ye bağlanarak büyümeyi, yeniden şekillenmeyi ve onarımı düzenleyebilir (43). *Biglikan* periselüler matrikste yer alır ve tip VI kollajen ile etkileşir (111). *PRELP* ve kondroadherin, sindekan ve $\alpha 2\beta 1$ integrine bağlanarak hücre-matriks etkileşimini düzenleyebilir (113-115). Derinlere gidildikçe proteoglikan oranı artar ve derin zonda kuru ağırlığın %50'sine ulaşır (43).

Trombospondin ailesinin bir üyesi olan *kıkırdak oligomerik proteini (COMP)*, normal yetişkin eklem kıkırdağının interterritoryal matriksinde yer alan tip IX kollajenle etkileşerek kollajen ağını stabilize eden kollajen ve proteoglikan yapısında olmayan bir proteindir (43, 116). *Matrilin-3* kıkırdak matriks bileşenlerinin bir araya gelmesinde fonksiyon görür

ve ekspresyonu yetişkin eklem kıkırdağının tanjansiyel zonundaki ve orta zonun üst kısmındaki kondrositler ile sınırlıdır (118). *Kıkırdak ara kat (intermediate-layer) protein (CILP)* eklem kıkırdağının orta/derin zonlarındaki kondrositlerce eksprese edilmekte ve interterritoryal matrikste biriktirilmektedir (119). CILP, pirofosfat metabolizmasında ve kalsifikasyonda rol oynayabilir (43, 120). Asporin, dekorin ve biglikan ile ilişkilidir ve TGF- β gibi büyüme faktörleri ile etkileşip bunları bağlayabilir (121, 123).

Normal yetişkin eklem kıkırdağında matriks komponentlerinin dönüşüm hızı düşüktür (48). Kollajenin yarı ömrünün 100 yıldan fazla olduğu öne sürülmüştür (124). Agrekan alt fraksiyonlarının yarı ömrünün ise 3-24 yıl olduğu tahmin edilmektedir (125). Periselüler matrikste yüksek miktarda proteoglikan ve protein (tip VI kollajen, dekorin, ankorin, fibronektin) bulunmaktadır. Bu bölgede kollajen ya yoktur ya da çok az miktarda bulunmaktadır (93, 103).

Territoryal matrikste ince kollajen fibriller periselüler matrikse tutunur ve kondrositlerin çevresinde fibrillerden meydana gelen ağlar oluşturur. Bu bölgenin kondrositleri eklemdeki yüklenme sırasında dokuyu hasardan korur (93).

Matriksin büyük kısmı interterritoryal bölgededir. Bu bölgedeki kollajen fibrilleri diğer bölgelere göre daha yüksek çapa sahiptir ve bu bölge kıkırdağın mekanik özelliklerinden sorumludur (93, 126).

2.1.5. Osteokondral Plak: Yapı ve Fonksiyonu

Osteokondral plak, subkondral plak adı verilen ince kortikal kemik tabakasından ve eklem kıkırdağının kalsifiye tabakasından meydana gelmektedir (127). Yetişkin eklem kıkırdağı subkondral kemik plağının (kortikal son plak ya da partiküler kemik plağı) üzerinde oturmaktadır (128). Subkondral plak, kalsifiye kıkırdak tabakası ile trabeküler kemik arasında yer alan damardan zengin bir kortikal kemik tabakasıdır (128). Eklem kıkırdağı kollajenden meydana gelen üç boyutlu bir iskelet aracılığıyla subkondral kemiğe bağlıdır (129). Kollajen fibriller sınırı geçerek kıkırdağı subkondral kemiğe bağlar (130). Osteokondral birim yaşlanmayla birlikte maruz kaldığı yüke bağlı olarak yapısal değişiklikler gösterir (131). Subkondral plak, kemik ve kıkırdak arasındaki madde alışverişi alanıdır. Bu alan aracılığıyla kemik, kıkırdağa besin maddelerini ulaştırır. Subkondral plaktaki kan damarı uçları derin kıkırdak tabakası ile doğrudan temas halindedir (132). Küçük damarların kortikal son plağı delerek kalsifiye kıkırdak içinde sınır hizasına kadar ilerlediği gösterilmiştir (133).

Kortikal son plağın kalınlığı yaş, vücut ağırlığı, yerleşim, fonksiyon ve genetik özelliklere göre farklılık gösterir ve merkezdeki ağırlığa maruz kalan alanda en kalındır (128).

2.1.6. Kemik Fizyolojisi

Kemik doku içerisinde *osteoblast* olarak isimlendirilen kemik yapan hücreler ile *osteoklast* olarak isimlendirilen kemik yıkıcı hücreler yer alır. Osteobastlar mezenşimal kök hücrelerden farklılaşırlar ve kemik dokunun yüzeyinde yerleşim gösterirler. Bu hücreler ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezinden sorumludurlar. Kemik doku mineralize olduğunda yani kemik gelişimi başladığında osteoblast hücreleri doku içerisinde kalarak *osteosit* adını alırlar. Osteoklastlar hematopoetik kök hücrelerden köken alırlar. Aynı zamanda, ekstraselüler matriksin yıkımından sorumludurlar (134).

Kemikleşme hücrelerin göçü, çoğalması, farklanması, sentez ve salgılama yapmaları ekstraselüler mineralizasyon ve rezorbsiyon gibi birbirini izleyen, eş zamanlı, karmaşık bir dizi işlem sonucu gerçekleşir (134).

İskelet gelişimi erken embriyonik ve fetal dönemde başlarken, büyüme doğumdan sonra adölesan döneme kadar devam eder. Kemikleşme ya intramembranöz ya da endokondral kemikleşme olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir. İntramembranöz kemikleşme, mezenşimal dokunun kan akımından zengin bölgelerinde mezenşimal hücrelerin kemik yapıcı hücreler olan osteoblastlara doğrudan farklanmaları ile gerçekleşir. Endokondral kemikleşmede ise daha kompleks olaylar birbirini takip eder. Önce mezenşimal hücreler kıkırdak hücresi olan kondrosit hücrelerine dönüşür. Oluşan kıkırdak model değişime uğrayarak mineralizasyonu, damar invazyonunu ve kemik doku ile yer değişimini kolaylaştırır. Her iki tip kemikleşme işleminde de kemik matriks birikimi ve mineralizasyonu aynı yoldan gerçekleşir. Önce süngerimsi (gözenekli trabeküler) kemik oluşur. Oluşan bu kemiğin çoğunluğu daha sonra yoğun kompakt kemiğe dönüşür. Kemik bir kez oluştuktan sonra yaşam boyu dinamik durumunu korur. Bu sayede büyümeyi sağlar ve homeostaz için gerektiğinde mineral iyonlarını vermeyi sürdürür. İskelet sistemini oluşturan kemiklerin çoğunluğunun geliştiği endokondral kemikleşmede mezenşimal yoğunluğu oluşturan hücreler kondrositlere farklılaşarak gelecekte oluşacak olan olgun kemiğin bir modelini meydana getirirler. Bu aşama kondrogenез olarak adlandırılır. Her kıkırdak modelin ortasında yer alan kondrosit hücreleri bölünmeye ara verip, hipertrofik hale geldikten sonra kalsifiye ekstraselüler matriks tarafından kuşatılırlar. Kalsifiye ECM içerisine gelişen vasküler invazyon sayesinde, bir sonraki adımda kemikleşme merkezlerinin oluşmasını sağlayacak olan osteoprogenitör hücreler şe-

killenir. Osteoprojenitör hücreler olgun osteoblastlara farklılaşarak, kemiğe spesifik proteinlerin salgılanmasını ve bu proteinlerin kondrositler tarafından oluşturulmuş ekstraselüler matriks ile yer değiştirmesini sağlar. Kemik modelin her iki ucunda kondrositler çok dar bir alana sıkıştırılır, kemiğin boyca uzamasına olanak sağlayan bu dar alan büyüme plağı olarak adlandırılır. Tipik bir büyüme plağı dinlenme halindeki kondrositlere ilaveten proliferatif ve hipertrofik kondrositleri içerir. Kemiğin yeniden şekillenmesi olarak tanımlanan bu işlev ile kemikler embriyonik dönem boyunca ve yetişkin dönemin çoğu bölümlerinde sürekli olarak yapılır ve yıkılırlar (134).

2.1.7. Subkondral Kemik Fizyolojisi

Subkondral plağın altında subkondral kemik yer alır. Subkondral kemik, trabeküler kemik yapısındadır ve boşluklarında yağlı bir kemik iliği bulunur (128). Osteokondral bileşenin kıvrımları oblik yükleri baskı ve gerilim streslerine dönüştürür. Fizyolojik eklem yüklenme ve serbestleşmelerinde kırık ve subkondral bölge deformasyona uğrar (128).

2.2. Osteoartrit

2.2.1. Tanım

OA uzun yıllar boyunca birçok uzman tarafından etiyolojisi bilinmeyen artiküler kırık ve subkondral kemiği etkileyen sinovyal bir hastalık olarak tariflenmiştir. Amerikan Romatoloji Tanı ve Tedavi Kriter Komitesi 1986 yılında OA için standart bir tanım getirmiştir. Buna tanıma göre; eklem kırıkdağının bütünlüğündeki bozukluk ile ilişkilendirilmiş semptom ve bulguların olduğu, kemik ve eklem kenarlarındaki değişikliklerle seyreden bir hastalıktır (135). Tüm dünyada özellikle 60 yaş üstü popülasyonun en sık etkilendiği eklem hastalığıdır (136). Ayrıca OA; sebep olduğu ağrı ve fonksiyonlarda gerileme ile %1-5 oranında iş kaybı yaratarak ciddi sosyoekonomik problemler oluşturabilen bir hastalıktır (137).

OA'ya bağlı olarak vücutta en sık etkilenen bölgeler; el, diz, kalça ve omurgadır. Ekstremitelerde sıklıkla asimetrik olarak dağılım gösterir. Fonksiyonel bozuklukla birlikte görülen semptomlar; inflamasyon, ağrı, sertlik ve hareket kısıtlılığıdır (138). OA risk faktörleri arasında; genetik yatkınlık, kadın cinsiyet, travma, ilerlemiş yaş ve obezite yer almaktadır.

OA; primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır. Primer OA; normal kullanımı tabii olarak oluşan eklem kıkırdağındaki dejenerasyona bağlı olarak gelişen doğal bir süreçtir. Eklemdeki bu aşınma ilerleyen yaşla birlikte daha belirgin bir hale gelir. Sekonder OA; eklem içindeki dejeneratif süreci başlatan ya da hızlandıran, altta yatan bir nedene bağlı olarak görülür. Başlangıç yaşı dejenerasyonu başlatan nedene bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Sekonder OA nedenleri arasında; enfeksiyon, travmatik eklem yaralanması, kalıtsal genetik rahatsızlıklar, eklem biyomekaniğini bozan hastalıklar (gelişimsel kalça displazisi, femoroasetabular sıkışma, perthes vb.) metabolik veya nörolojik sendromlar ve osteonekrozlar sayılabilir.

2.2.2. Epidemiyoloji

OA populasyonun %15'ini etkileyen ve artrit çeşitleri içinde en sık görülen formdur (2). Genellikle alt ekstremitede, özellikle de diz ve kalça eklemine sık görülür. Diz osteoartritinin hayat boyu görülme sıklığı erkeklerde %40, kadınlarda %47 olarak saptanmıştır. VKİ 30 ve üzerinde olan kişilerde görülme riski %60 oranında artmaktadır (3). Günlük pratikte tanı sıklığı artan OA'nın, özellikle yaşam süresinin uzaması ve artan obezite prevalansı da göz önünde bulundurulduğunda 2020 yılında iki kat fazla görülmesi beklenmektedir (139).

Hasta yaşları standardize edilerek yapılan prevalans çalışmalarında; 45 yaş üzeri radyolojik olarak diz OA tanısı alan hasta oranı *Framingham Çalışması*'nda %19.2 olarak saptanırken, *Johnston County OA Projesi*'nde bu oran %27.8 olarak belirtilmiştir (140). 60 yaş ve üzerindeki populasyonun değerlendirmeye alındığı *3.National Health and Nutrition Examination Survey* çalışmasında ise radyolojik olarak diz OA tanısının %37 oranında olduğu saptanmıştır (140). Ayrıca 80 yaş ve üzeri populasyonun değerlendirildiği bir başka çalışmada ise; radyolojik tanı diz OA'nın, kadınların %53'ünde erkeklerin ise %33'ünde görüldüğü saptanmıştır (141).

2.2.3. Patogenez

Önceleri OA'da gelişen kıkırdak dejenerasyonuna mekanik kaynaklı bir problemin neden olduğu düşünülürken artık OA'nın tüm eklemi ilgilendiren ve matriks proteinazlarının esas rol oynadığı bir hastalık olduğu bilinmektedir (142). OA patogenezinde kıkırdak, sub-

kondral kemik doku ve sinovyumun birlikte etkilendiği ve sonuç olarak sistemik bir inflamasyonun meydana geldiği görülmektedir (1). OA sürecinde kıkırdak dokuda hasar onarımı da bozulmuştur. Kıkırdak hasarının erken döneminde matrikste büyüme faktörleri ve kondrositler kümelenerek onarımı sağlamaya çalışırken, matriks metalloproteinazların ve agregazların etkisi ile imbalans sağlanamaz ve onarım gerçekleştirilemez (12, 13). Kronik sinovyal inflamasyon şişlik ve ağrıya sebep olur. Bu durum kıkırdak onarımının sağlanamamasına etki eden diğer faktörler içerisinde sayılabilir (14). Tüm bunların yanında subkondral kemikteki değişiklikler OA patogenezinde asıl rol oynar. Özellikle osteofit oluşumu, subkondral skleroz ve kondral aşınma radyolojik olarak belirgin özelliklerdir. Bu değişiklikler erken evreden son dönem OA'ya kadar her aşamada görülebilir. Dolayısı ile kıkırdak hasarının subkondral kemik kaynaklı olarak başladığı düşünülmektedir (143, 144).

2.2.3.1. Kıkırdak Matriks Rejenerasyonu ve Yıkımı

Fetal hayatta kıkırdak endokondral kalsifikasyon yoluyla kemik gelişiminde önemli role sahiptir. Erişkin kıkırdakta ise kondrositler genelde durgun haldedirler ve kıkırdak matriks döngüsü yavaştır. Replikasyon daha çok derin tabaka ile sınırlanmıştır. Kondrogeniz sürecinde (gerek embriyogenez gerekse erişkin kıkırdakta) homeostatik dengenin korunmasında çeşitli büyüme ve transkripsiyon faktörleri (*TGF-β*, *BMPs*, *IGF-I*, *FGF-2*, *RUNX2*, *Cart-1* gibi) sinyal ve düzenleyici moleküller (*Wnt*, *hedghog* ailesi) önemli rollere sahiptir (145). İlerleyen yaşla birlikte kıkırdağı koruyucu bir mekanizma olan otofajinin azaldığı ve yerine altta yatan patolojiye bağlı hücre ölümü ve apoptozise giden yolların aktifleştiği gösterilmiştir (146, 147, 148). Yaşlanma kondrositlerin sayı ve fonksiyonel kapasitesinde azalmaya yol açan bir faktör olsa da travma veya dejeneratif başka bir patoloji eşlik etmiyorsa kıkırdakta yaşa bağlı dejeneratif değişiklikler olmasına rağmen eklem hareketi devam ettirilebilir.

OA gibi dejeneratif süreçlerde kıkırdakta anabolik aktivitede bir artış söz konusudur. Sentetik aktivitedeki bu artış kıkırdakla sınırlı olmayıp eklemdeki diğer dokuları da etkiler. Osteofit formasyonu, subkondral skleroz bu anabolik aktivitedeki artış sonucunda izlenen bulgulardandır (149). Dejeneratif süreçte yıkılan dokunun yerine konulması amacıyla hızlanan kıkırdak döngüsü ile birlikte dokunun ana bileşenlerinden olan kollajenlerin (tip II başta olmak üzere tip VI, IX, XI) ve agreganların sentezi artar. Kıkırdak dokuda kollajen dağılımı farklılık göstermekte olup hasarlanmayı takip eden ilk değişiklikler kondrosit laküna çevresindeki periselüler bölgede izlenir (150). Hasarlanmaya neden olan uyarının şiddeti, süresi

ve kalıcılığına bağlı olarak kondrosit mikro çevresindeki proteinlerin yeterli düzeyde yenilenmesi yıkım sürecinin erken dönemde kontrol altına alınmasına olanak sağlar. *Tip VI kollajen, proteoglikanlar (dekorin, ankorin) ve fibronektin* gibi kondrositlerin 3 boyutlu konformasyonunun dolayısıyla fenotipinin korunmasında etkili moleküllerin kayıpları ise dejeneratif sürecin bütün kıkırdak matrikse ve devamında komşu dokulara yayılmasına neden olur (150).

Dejeneratif eklem hastalıkları ve travmatik yaralanmalar gibi patolojik süreçlerde kondrogenez için gerekli homeostatik koşullar katabolik yolların lehine bozulur (151, 152). Kıkırdakta, dokunun avasküler yapısı diğer dokulardan farklı olarak, kanlanmaya bağlı inflamasyon ve onarım ile seyreden klasik iyileşme yanıtını sınırlar. Kısmi hasarlanmaların, dokudaki kondrositlerin göç etme kapasitelerindeki sınırlılık ve kan yoluyla taşınan progenitör hücrelerin yokluğu nedeniyle onarılması güçtür. Kıkırdak rejenerasyonunda sınırlamalara neden olan diğer biyolojik etkenler arasında kıkırdak dokunun sınırlı sayıda hücreye sahip olması ve erişkin kondrositlerin düşük bölünme kapasitesi (mitotik aktivite) sayılabilir (153). Sinovya gibi çevre dokulardan göçle gelen hücreler ise kıkırdağın avasküler yapısı nedeniyle klasik yara iyileşme mekanizmalarını işletmekte yetersiz kalmaktadır (151). Kıkırdak hasarının onarımında doku tüm özelliklerini yeniden kazanamaz ve tam bir rejenerasyon gerçekleşmez. Kıkırdağın yalnızca bazı yapısal ve fonksiyonel özelliklerini geri kazanması söz konusudur (154). Kıkırdak onarım mekanizmaları incelendiğinde hasarlı bölgeye komşu hücrelerin öncelikle hücre ölümüne gittiği, daha sonrasında kondrosit proliferasyonunda ve kümelenmesinde bir artış olduğu, bu artışa matriks yapım ve yıkımındaki artışın da eşlik ettiği izlenmiştir.

Kıkırdak hasarının endojen onarımı lezyonun derinliği ve hasarın subkondral kemiğe nüfuz edip etmediğine bağlıdır (151). Örneğin yüzeysel kıkırdak hasarlarında ve canlı kondrositlerin varlığında FGF-2 ve BMP gibi büyüme ve farklılaşma faktörlerinin artışına yanıt olarak kıkırdağa özel matriks bileşenlerinin sentezi ile hasarın tamiri bir dereceye kadar mümkündür (155). Derin kıkırdak lezyonlarında ise hasar subkondral kemiğe kadar ulaşır. Altta yatan kemik dokudan gelen kanlanma ile kıkırdak dokuya hücre göçü, fibrin pıhtı oluşumu ve inflamasyon süreci ile birlikte granülasyon dokusu oluşur. Kıkırdak rejenerasyonunda periosteumun önemi uzun zamandan beri bilinmektedir. Periosteumda bulunan mezankimal kök hücrelerin kondrositlere farklılaştığı in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (156). Ancak iyileşme çoğunlukla hyalin kıkırdak dokunun yerine tip I kollajenden zengin, daha az miktarda glikozaminoglikan (GAG) içeren fibrokartilaj bir yapının oluşması ile sonuçlanır (154). Kıkırdağın normal fizyolojik ihtiyaçlara karşı fonksiyonlarını gerçek-

leştirmesinde yetersiz kalan bu yeni doku eklemde osteoartrit gibi kronik dejeneratif süreçleri başlatarak dejeneratif değişikliklerin kalıcılık kazanmasına yol açar. Osteoartrit sürecinde yüzeysel tabakadaki kondrositlerde nekroz, derin tabakalardaki kondrositlerde ise kümelenmeler izlenmektedir (157). Mezenkimal orjine sahip kondrositlerin fenotipik özelliklerini korumaları ürettikleri ve içinde buldukları hücre dışı matriks kompozisyonu ile yakından ilişkilidir. Kıkırdak matriksinin önemli yapı taşlarından biri olan proteoglikanlardaki kayıpların kondrosit fenotipi üzerine etkileri bilinmektedir (150). Proteoglikanlar tarafından devam ettirilen ozmotik dengenin bozulması ve kollajen fraksiyonundaki azalma dokuda su tutulumu ve şişmeye neden olarak kondrosit etrafındaki periselüler bölge dahil olmak üzere kıkırdağın mekanik özelliklerini bozar (150). Kıkırdakta oluşan mekanik ya da inflamatuvar strese yanıt olarak kondrosit disregülasyonunda izlenen önemli fenotipik özelliklerden biri de hipertrofiye gitmeleridir (158). Kondrositlerde izlenen bu fenotipik değişim büyüme plağı ve endokondral kemikleşmede izlenen fizyolojik süreçlerle benzerlik göstermektedir. Kıkırdak yenilenmesinde kondrosit hipertrofisinin yanı sıra aktifleşen süreçler ise; vasküler invazyon ve proteolitik aktivasyondur. Bu otolitik kondrositler *Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2* (RUNX2), kollajen X, MMP-13 ve İndian hedgehog (Ihh) gibi terminal farklılaşma markerlarını eksprese eder (152).

Dejeneratif durumlarda ise periselüler kıkırdak matriksinde progresif hasara yol açan IL-1, TNF- α gibi mediatörler üretilmeye başlar, RUNX1 gibi yüzeysel ve orta tabakalarda eksprese edilen kondrogenез için gerekli transkripsiyon faktörlerinin düzeylerinde azalma izlenir (145). Sonuçta bir yandan yıkım yönündeki kaskadlar aktifleşirken diğer taraftan *Dickkopf (DKK-1)* gibi *Wnt yolağını* inhibe ederek kıkırdak koruyucu etki gösteren mekanizmalarda inhibisyon izlenir (159). Kondrosit hipertrofisi endokondral kemik oluşumunda fizyolojik ve gerekli bir süreç iken bu olayın kontrolsüz gerçekleşmesi sonucunda kıkırdakta geri dönüşümsüz hasarlar ortaya çıkar (160). Hipertrofiye giden kondrositlerin bir sonraki aşamada otofaji yerine apoptozise gittikleri gösterilmiştir (147).

Kıkırdak dejenerasyonunun patogenezinde geri dönüşümsüz hasarlanmada rol oynayan en önemli faktörlerden biri MMP'lerdir. Çinko endopeptidazlardan *metzinkin ailesi* ekstraselüler matriks, hücre-ekstraselüler matriks ve hücre-hücre etkileşimlerinin düzenlenmesinde temel etkilere sahiptir (161). Matriks metalloproteinazlar, disintegrinmetalloproteinazlar (ADAM) ve trombospondin tip 1 benzeri tekrarları olan disintegrin metalloproteinazlar (ADAMTS) birçok hücre tarafından üretilebilirler. Kıkırdak hasarında gerek kondrositler gerekse bölgeye göç eden hücreler tarafından üretilen MMP'ler ve agrekanaz (ADAMTS)

gibi proteazlar katabolik öneme sahiptir. MMP13 büyüme plağında fibriller kollajen ve agrekanı yıkan majör kollajenaz olup transkripsiyonu RUNX2 kontrolü altındadır (162).

MMP'ler (MMP1-3-13) ve ADAMTS-4, ADAMTS-5 gibi agrekanazlar kıkırdak dokunun iki asal molekülü tip II kollajen ve proteoglikan agrekanı yıkarak matriks bütünlüğünde geri dönüşsüz hasara yol açarlar (163). Her iki enzim grubu kıkırdakta mevcut diğer kollajen olmayan proteinlerin yıkımından da sorumludur (150). Örneğin hasarlı bölgede kondrositlerin yanı sıra kıkırdak rezorbsiyon bölgelerinde izlenen monosit, proosteoklast ve osteoklastlar tarafından üretilen bir diğer enzim, MMP9 denatüre kollajen fragmanları ve agrakanı yıkma kapasitesine sahiptir (162). MMP'lerin yanı sıra serin ve sistein proteinazlar tarafından parçalanan fibronektin gibi bağ dokusu proteinlerinin yıkım ürünleri ise kondrositlerin proteaz sentezini arttırıcı etki gösterir (164). Yine MMP'ler bağ dokusunda ya da hücre membranında bulunan büyüme faktörlerini serbestleştirerek aktivasyon kazandırır ve hücre yüzey adezyon moleküllerini proteolize uğratarak pro ya da anti-inflamatuar yanıtı açabilirler (161).

Kıkırdaktaki dejeneratif süreç, oksidatif stres, DNA ve protein hasarı, kondrositlerce proteinazların artmış sentezi, kıkırdak matriksinde ve kondrosit sayısı ve fonksiyonlarında azalma ile seyreden çoğunlukla geri dönüşsüz bir süreçtir. Dokunun rejenerasyon kapasitesi kıkırdak hasarının boyutu ve derinliği ile direkt bağlantılıdır. Kıkırdak hasarlanmasında birbirleriyle etkileşim içinde olan endojen (yaşlılık, homeostatik yanıtlarda bozulmalar, inflamasyon vb.) ya da ekzojen (mekanik travma vb.) faktörlerin kıkırdak yıkımına katkıları kişiden kişiye farklılık gösterebilir. Bu mekanizmaların tam olarak anlaşılması kıkırdağın onarımına yönelik kişiye özel tedavilerin geliştirilmesini mümkün kılacaktır.

2.2.3.2. Subkondral Kemik Patofizyolojisi

Subkondral kemik doku kalsifiye kıkırdağın hemen altına yerleşerek trabeküler kemik doku ile arayüz oluşturur. OA sırasında yaşanan değişiklikler hem kortikal tabakada hem de trabeküler kemikte birlikte görülür (165). Bu tabakaların tutulumu sonrası osteofitler ve subkondral kemik kistleri görülür. Subkondral dokunun MR ile yapılan ileri değerlendirmelerinde histolojik birçok değişikliğin birlikte görüldüğü ve farklı iyileşme dönemlerinde olan birçok hasarlı dokuya rastlanmıştır. Bu dokular kıkırdak hasarının fazla olduğu bölgelelere yerleşmiş olarak görülmüştür (166). Yapılan birçok çalışma subkondral hasarın ve osteofit formasyonunun kıkırdak dejenerasyonundan önce geliştiğini göstermektedir (167, 168). Ayrıca osteoblastlarda tıpkı kondrositler gibi mekanik uyarı ile birlikte inflamatuvar sitokinler ve

yıkıcı enzimler eksprese eder (169). Bu faktörler doğrudan kıkırdak üzerinde ya da subkondral kemiği etkileyerek dolaylı olarak kıkırdak dokuya ulaşarak hasar oluşturabilir. Diğer yandan subkondral yeniden şekillenme kıkırdak bütünlüğünün bozulması ile birlikte artar. Subkondral dokuda bulunan yaygın sinirsel inervasyon ağrının esas kaynağı olarak gösterilmektedir.

2.2.3.3. Sinovya

Sinoviyal doku, sinoviyal zar ve sinoviyal sıvıdan oluşur. Sinoviyal zar eklem kapsülünün arka iç yüzeyi boyunca yayılan, eklem kıkırdağını örtmeyen, damardan zengin bir bağ dokudur (170). Sinoviyal zar normalde bir veya iki hücre kalınlığındadır (171). Bu hücreler sinoviositler olarak bilinir ve plazmanın ultrafiltrasyonu ile sinoviyal sıvı oluşmasından sorumludur. Sinoviyal tabakada bulunan bu hücreler, makrofaj benzeri etki gösterir ve hyaluronik asit, proteoglikan, kollajen tip I-III, TIMP (matriks metalloproteinazların doku inhibitörü) , latent proteinaz ve kollajenaz sentezler. Sinoviyal doku vasküler beslenmesi iyi olduğu için yüksek yenilenme kapasitesine sahiptir. Sinoviyal sıvı, plazmanın sinoviyal aralığa geçen bir filtratıdır. Sinoviyal sıvı 2-4 ml arasında, renksiz, berrak ve viskozitesi yüksek bir sıvıdır (172, 170, 173). Viskosite hyaluronik asit içeriğine bağlıdır. Sinoviyal sıvı eklem den difüzyon yoluyla eklemi çevreleyen lenfatik ve kapillerlere atılırken normal döngü sürecine uğrar.

Sinoviyal sıvı eklem çevresindeki kıkırdağa besin desteği sağlar ve eklem binen yüke bağlı olarak eklem kayganlaştırıcı veya şok absorbe edici olarak görev yapar. Sinoviyal sıvı bariyer dışlama olarak adlandırılan yüksek molekül ağırlıklı hyaluronat moleküllerinin kesişmesine bağlı olarak inflamatuvar hücre (örneğin, nötrofil) ve moleküler artıkların eklem içinde hareket etmesini sınırlar (172, 173). OA noninflamatuvar bir hastalık olarak bilinmesine rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalarda, sinovitin ve düşük derece inflamasyonun OA patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (174, 175, 178). Kıkırdak yıkımı sonucu kıkırdaktan parçalanmış makromoleküller ile OA'da sinoviyal inflamasyon başlar. Kollajen, proteoglikan ve diğer matriks parçaları sinoviyal sıvıya geçer ve sinoviyal makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bunlar antijen gibi hareket ederek IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin salınımına yol açar (171, 176). Artan sitokin sentezi kıkırdak yıkımını artırır ve bu parçalanma ürünleri inflamasyonun daha da artmasına neden olur. Sinoviyal inflamasyon, sinoviositler ve kondrositler tarafından yapılan biyokimyasal faktörler, prostanooidler, sitokinler ve reaktif oksijen türleri tarafından kontrol edilmektedir (177).

2.2.4. Tanı

OA'nın en yaygın semptomu eklem ağrısıdır. Bu ağrı aktiviteyle artma eğilimindedir, özellikle bir dinlenme periyodunun ardından görülür ki bu duruma "Gelling Fenomeni" denir. OA sabah sertliğine neden olur fakat bu romatoid artrit aksine 30 dakikadan daha kısa sürer. Romatoid artrit neden olduğu sabah sertliği 45 dakika veya daha fazla sürer (179). Hastalar eklem kilitlenmesi veya eklem instabilitesi de tarifleyebilir. Bu semptomlar fonksiyon kaybıyla sonuçlanır. Hastalar ağrı ve sertlik nedeniyle günlük yaşantılarındaki aktiviteleri tam olarak yerine getiremezler.

OA için özgül tanısal bir test yoktur. Primer OA'da eritrosit sedimentasyon hızı, tam kan, idrar ve kan biyokimya tetkikleri normaldir. RF ve ANA klasik olarak negatiftir. Sino-viyal sıvı; rengi berrak, viskozitesi yüksek ve hücre sayısı mm^3 'de 2000'den düşüktür. Eklem sıvısında CPPD veya hidroksiapatit kristalleri saptanabilir (180). Kemik metabolizmasını gösteren rutin kalsiyum, fosfor ve alkalen fosfataz değerleri primer OA'da normal bulunmuştur.

CRP inflamasyon belirleyicisidir ve artmış düzeylerinin uzun dönemli diz osteoartrinde radyolojik ilerleme ile korele olduğu düşünülmektedir. Erken OA etyolojisi ve progresyonunda sürekli düşük dereceli inflamasyon etkindir. CRP'nin yükselmesi hafif ve orta dereceli OA'da ilerlemeyi belirlemektedir (180).

En çok etkilenen eklemler eller, dizler, kalça ve omurgadır ama her eklem etkilenebilir. OA genellikle asimetriktir. Bir tarafında şiddetli OA bulunan bir hastanın diğer dizi neredeyse tamamen normal olabilir. Eklem hareketlerinde ağrı ve eklem hareket açıklığının kısıtlanması neredeyse tüm OA'larda görülmekle beraber her eklem kendine özel fizik muayene bulguları vardır (Tablo 1).

Tablo 1. Osteoartritin vücudun çeşitli eklemlerinde görülen belirti ve semptomları

El	Kalça
Eklem hareketlerinde ağrı	Eklem hareketlerinde ağrı
DIF VE PIF eklemlerinde hipertrofik değişiklikler (Heberden ve Bouchard nodülleri)	Kalçaya yayılan ağrı
Karpometakarpal eklemlerde hassasiyet	Eklem hareketlerinde kısıtlılık, özellikle iç rotasyonda
Omuz	Ayak
Eklem hareketlerinde ağrı	Yürürken ağrı, özellikle 1. Metatarsofalangeal eklemde
Eklem hareketlerinde kısıtlılık, özellikle dış rotasyonda	1.metatarsofalangeal eklem hareketlerinde kısıtlılık, halluks rijitus
Eklem hareketlerinde krepitasyon	Halluks valgus deformitesi
Diz	Omurga
Eklem hareketlerinde ağrı	Eklem hareketlerinde ağrı
Eklem efüzyonu	Eklem hareketlerinde kısıtlılık
Eklem hareketlerinde krepitasyon	Kök basısına bağlı olarak alt ekstremitede; duyu ve refleks kayıp, motor güçsüzlük
Popliteal bölgede kist (Baker)	
Lateral instabilite	
Valgus ya da varus deformitesi	

2.2.5. Risk faktörleri

OA ortak bir patolojide birleşen mekanik, hücrel ve biyokimyasal faktörlerin sonucunda ortaya çıkan kompleks bir durumdur. Bir dizi farklı risk faktörü OA gelişiminde birlikte rol oynar (Tablo 2).

Tablo 2. Osteoartrit için risk faktörleri

Modifiye edilebilir lokal risk faktörleri	Modifiye edilebilir sistemik risk faktörleri	Modifiye edilemez sistemik risk faktörleri
Kas gücü	Obezite	Yaş
Fiziksel aktivite	Diyet	Cinsiyet
Eklemler hasarı	Kemik metabolizması	Genetik
Eklemler dizilimi		Etnik köken
Alt ekstremite uzunluk farkı		

2.2.6. Klinik bulgular

OA çoğunlukla dizleri, elleri, ayakları, kalçaları ve omurgayı etkiler. Bu eklemler semptomatik olabilir ya da sadece radyolojik olarak etkilendikleri görülebilmektedir. Radyolojik olarak şiddetli eklem değişiklikleri şiddetli semptomlarla beraber olabileceği gibi hiç semptom olmadan da görülebilir. Yumuşak dokuda şişlik ve efüzyon artritin inflamatuvar formunda ısı artışı ve kızarıklık olmadan da görülebilir.

2.2.7. Görüntüleme

OA tanısı radyolojik değerlendirmede klasik olarak çekilen direkt grafide; eklem aralığında daralma, osteofit formasyonu, subkondral skleroz ve kist gelişimi ile görülür (Şekil 5).



Şekil 5: Direk radyografide OA'lı hastaların bulguları a) El OA b) Dirsek OA c) Omuz OA d) Diz OA e) Kalça OA

Ultrasonografik (USG) değerlendirme özellikle el ve dizde görülen sinovitin değerlendirmesinde ayrıca hastalığın progresyonunun izlenmesinde önemlidir (181). Bilgisayarlı tomografik (BT) değerlendirme OA'nın erken evre tanısında yer almaz ancak düşük doz dual-enerjili BT ile kas-iskelet sistemi değerlendirmesi yapmak mümkündür (182).

2.2.8. Tedavi

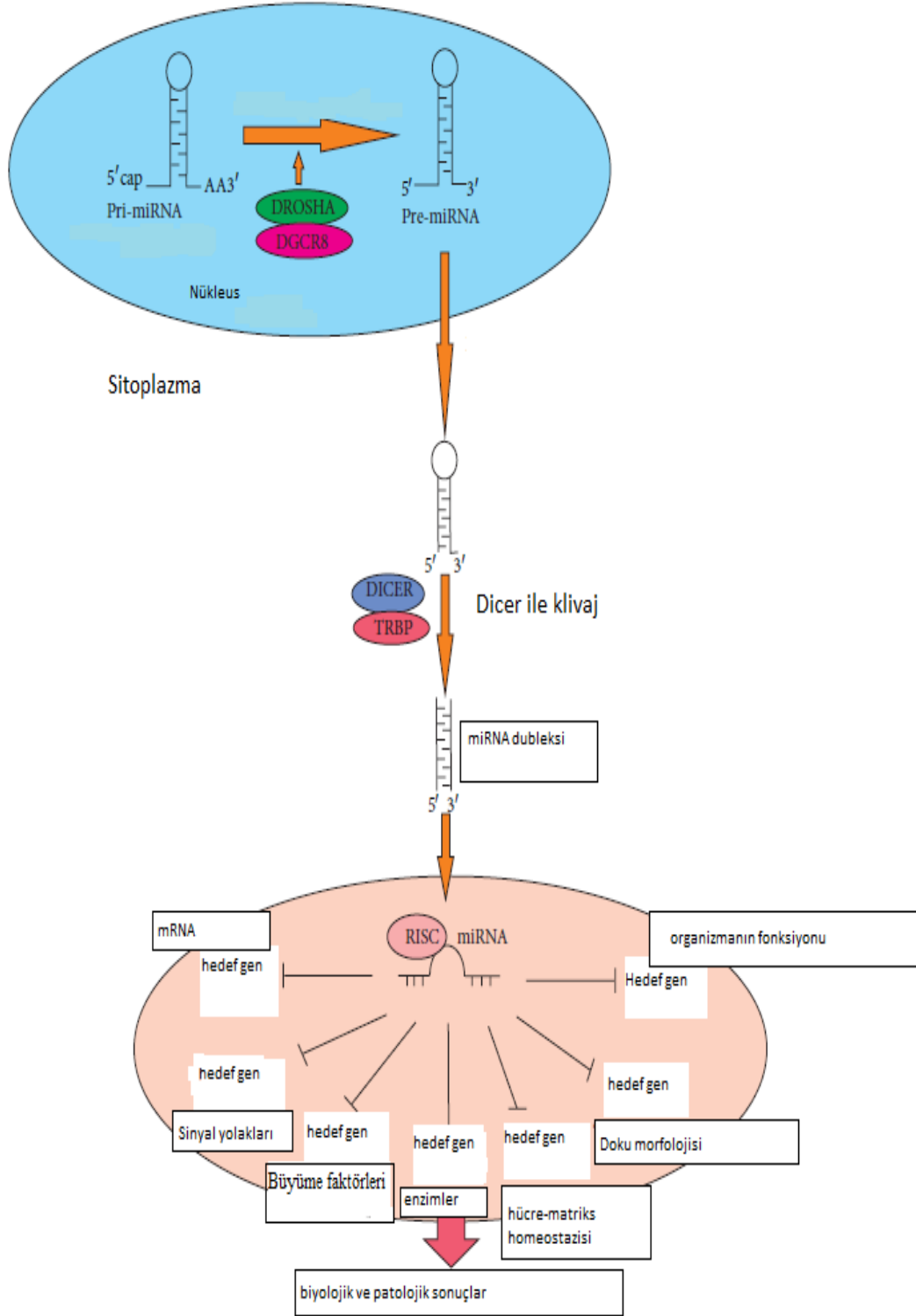
Erken evre OA'da eklem ağrısı ve sertlik diğer semptomlardan baskındır. Bu nedenle uygulanacak tedavide öncelikli hedef eklem ağrısının ve sertliğinin azaltılması aynı zamanda fonksiyonel kapasitenin artırılmasıdır. OA'nın birçok formunda hayat tarzı değişikliği gereklidir. Obez hastalarda kilo vermek ile semptomatik OA gelişme riski azaltılmış olur (183). Egzersiz programlarının başlanması ile kas gücünün artırılması ve aerobik kapasitenin yükseltilmesi hedeflenebilir. Bu sayede hastaların artan kardiyovasküler sağlık durumları ile birlikte genel mortalite oranlarında azalma görülür (184). OA tanısı sonrası hayat tarzı değişikliği ve farmakolojik tedavi önerilir. Farmakolojik tedavi ajanlarından özellikle; parasetamol ve non-steroid anti-inflamatuar (NSAI) ilaçlar semptomların kontrol altına alınmasında halen anahtar rol oynamaktadır. Ancak birçok yeni ilaç OA'nın semptomlarını azaltmak amacıyla geliştirilmeye çalışılmaktadır. miRNA'ların OA'lı hastalarda tedavi hedefi olarak kullanılabilirliği ile ilgili yapılan çalışmalar umut vaat etmektedir. Şuan için devam

eden ağrı ile birlikte fonksiyonel bozukluğun görüldüğü hastalarda cerrahi tedavi endikasyonu vardır.

2.3. MikroRNA

miRNA'lar yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli RNA türüdür ve mRNA parçalanması veya translasyon inhibisyonu ile gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar (185-187). miRNA'lar ilk olarak 1993'te Lee ve çalışma arkadaşları tarafından *Victor Ambros* laboratuvarında *C. elegans* solucanında keşfedilmiş ve varlıkları çeşitli bitki ve hayvanlarda gösterilmiştir (17). Her geçen gün sayısı artan miRNA'lara ait bilgiler miRBase isimli merkezi bir veri tabanında toplanmaktadır (188). miRNA'ların keşfiyle normal gelişim süreci ve hastalıklardaki rollerinin araştırılması onları yeni bir biyobelirteç sınıfı yapmaktadır (187, 190, 191). miRNA'ların gelişim, homeostaz ve bağışıklık fonksiyonlarında önemli bir rol oynadığı, hücre çoğalmasını ve apoptozu düzenlediği gösterilmiştir (190-193). miRNA'ların kanserden inflamasyona kadar çoğu hastalıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte birçok miRNA'nın dizileri, temel ekspresyon bilgileri ve fonksiyonları hakkında yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır (190, 191, 194).

miRNA'lar diğer genler gibi DNA üzerinden transkribe edilir ve proteine dönüştürülmeden küçük RNA molekülleri halinde gen düzenlenmesinde görev alır (195). miRNA'lar post-transkripsiyonel olarak gen ekspresyonunu kontrol eden moleküllerdir. mRNA'ların 3' çevirime uğramayan bölgeleriyle (UTR- untranslated region) baz eşleşmesi yaparak onların yıkımını sağlar veya translasyona uğramalarını engeller (Şekil 6) (194-196).



Şekil 6: miRNA biyogenezi ve fonksiyonları (Yu, X. M., et al. (2015). "MicroRNAs' Involvement in Osteoarthritis and the Prospects for Treatments." Evid Based Complement Alternat Med 2015: 236179.)

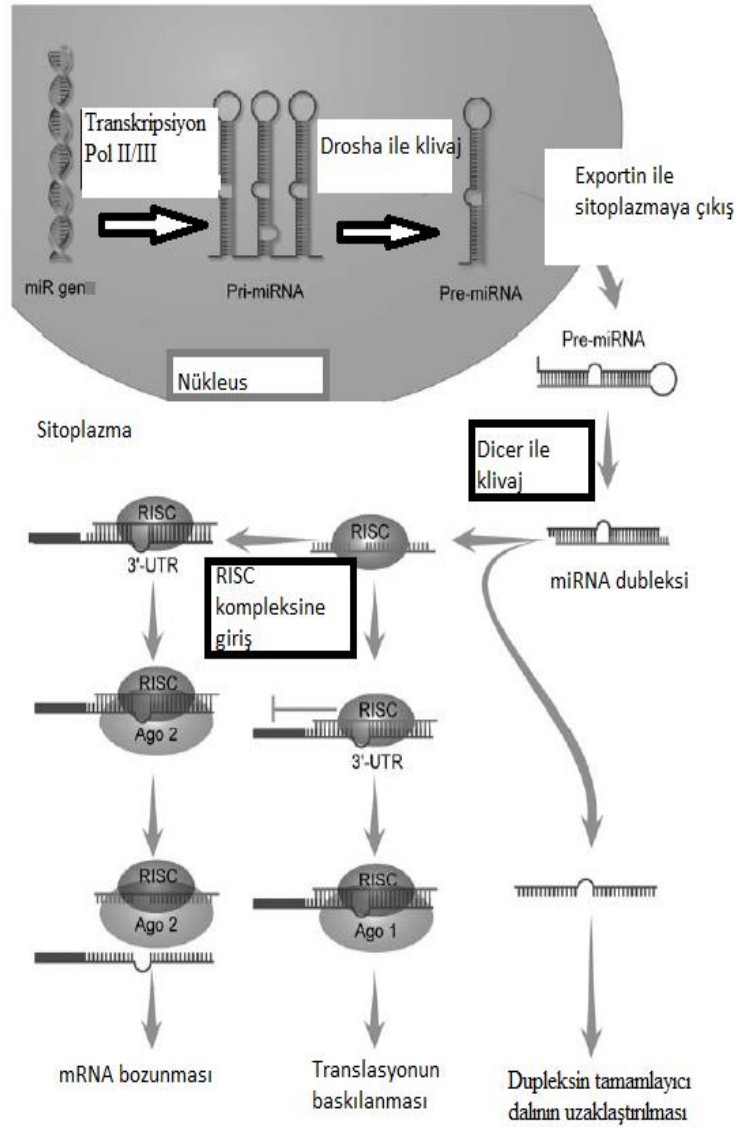
2.3.1. miRNA Biyogenezi

miRNA'lar miRNA genlerinden *RNA Polimeraz II* tarafından transkribe edilir. Oluşturulan transkript 'cap' ve 'poli(A)' kuyruğuna sahiptir. Bu oluşan ilk transkript primer-miRNA (pri-miRNA) olarak isimlendirilir. Pri-miRNA'lar saç tokası şeklindedir. Bu yapıda olgun miRNA dizisi ilmeğin yakınındaki sap kısmında bulunur (187, 197, 198). Pri-miRNA iki adımlı bir süreçten geçerek olgun ve işlevsel miRNA haline gelir. İlk adım çekirdekte gerçekleşir ve pri-miRNA "mikroişlemci kompleks" adlı bir protein kompleksi tarafından kesilir. Mikroişlemci komplekste *Drosha* adlı bir nükleaz ve *DiGeorge critical region 8 (DGCR8)* adlı çift iplikçikli RNA bağlayıcı protein bulunur (195, 199, 200). *Drosha* enzimi pri-miRNA'nın sap-ilmek yapısını tanıyarak sap kısmında belli bir noktadan kesim yapar (194, 196, 199-201). 160 kD'luk bir nükleaz III endonükleaz olan *Drosha*, yaklaşık 200 nükleotit büyüklüğündeki pri-miRNA'yı keserek 70-80 nükleotitlik sap-ilmek şekilli, öncül (prekürsör) miRNA'yı ortaya çıkarır. *Drosha*'nın tanımadaki bu özgülüğü, yardımcı proteinlerle sağladığı düşünülmektedir (195, 196, 199). Pre-miRNA'lar nükleustan sitoplazmaya *Exportin-5 (XPO5)* isimli taşıyıcı protein ile taşınır. *XPO5*, *Ran-GTP* ve *pre-miRNA* ile heterotrimerik yapı oluşturur (202). Bu yapı pre-miRNA'nın yapısını stabilize ederek hücre zarında bulunan porlardan sitoplazmaya taşınmasını sağlar. Sitoplazmada *Ran-GTP*'nin *Ran-GDP*'ye hidrolize olmasıyla pre-miRNA serbest kalır (203).

İkinci adım sitoplazmada gerçekleşir ve pre-miRNA 200 kD'luk sitoplazmik ribonükleaz III enzimi *Dicer* ve çift zincirli RNA bağlanma proteini olan *transaktivasyon cevabı oluşturan RNA bağlanma proteini (TRBP- Transactivation responsive RNA binding protein)* tarafından ilmek kısmından kesilerek çift dal RNA dubleks (miRNA:miRNA) oluşturulur. Bu dubleks yapıda hem olgun miRNA dalı hem de onun tamamlayıcı dalı (miRNA) birlikte bulunur. Tamamlayıcı dal uzaklaştırılarak yaklaşık 22 nükleotitlik uzunluğunda tek zincirli olgun miRNA oluşur (Şekil 7) (195-197, 199, 201, 204).

Olgun miRNA'lar işlevlerini gerçekleştirmek için başka proteinlere de ihtiyaç duyar. Bu proteinlerle birlikte *RNA ile tetiklenen sessizleştirici kompleks (RNA-induced silencing complex; RISC)*'i oluştururlar. Bu yapıda en iyi tanımlanmış proteinler *Argonat (Argonaute; Ago)* ailesi proteinleridir (194-197, 205). Olgun miRNA bu yapıya katılırken tek zincir hale geçer. *Argonat* protein ailesinin üyeleri *Dicer*'a benzeyen PAZ bölgesiyle tek zincir RNA'nın 3' ucuna bağlanır. Yapılan çalışmalar *Argonat* proteinlerinin hedef mRNA'yı kesen endonükleazlar olduğunu göstermektedir (196, 197, 199, 205). RISC kompleksi miRNA'ların sahip oldukları 6-8 nükleotitlik tohum dizisiyle hedef mRNA'nın 3'-UTR bölgesi-

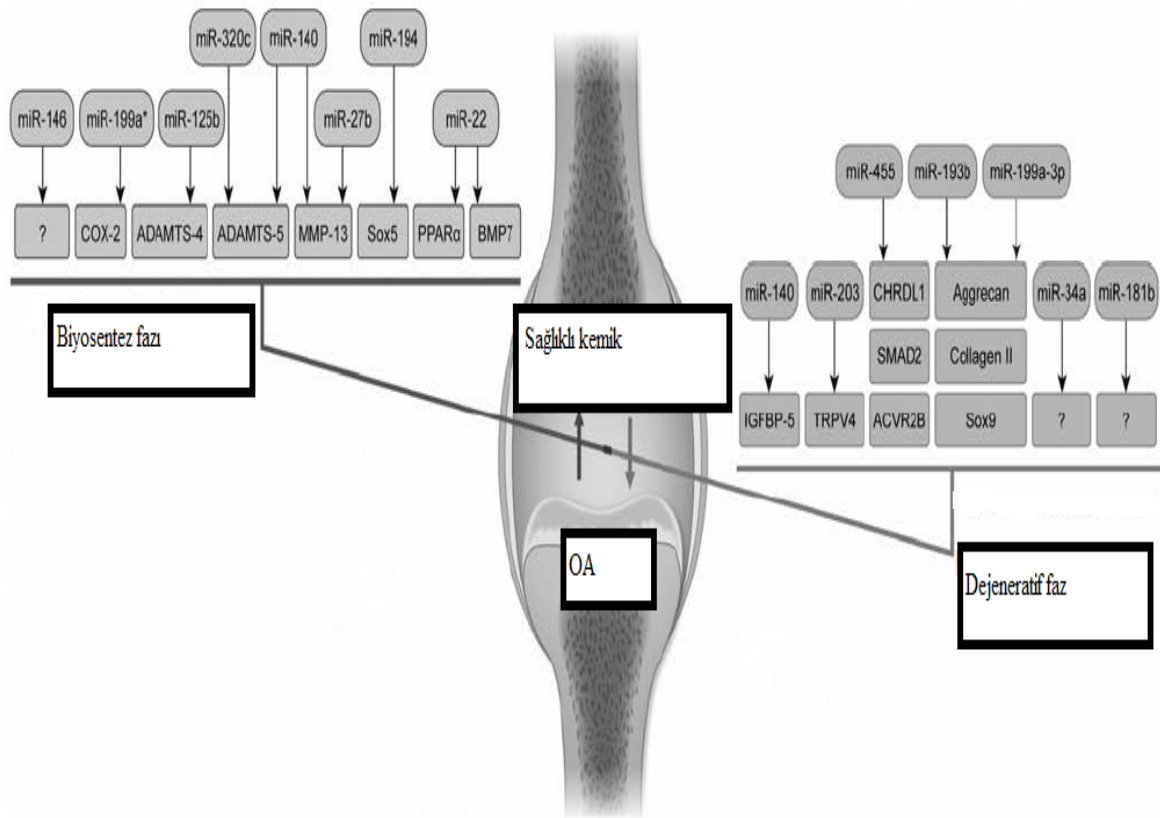
ne yönelir ve etkilerini hedefledikleri mRNA'nın 3'-UTR bölgesindeki baz eşleşmesine göre gösterir. 3'-UTR bölgesinde yüksek oranda baz eşleşmesi varsa mRNA yıkılır. Memelilerde olduğu gibi baz eşleşmesi azsa mRNA'nın translasyonu baskılanır (185, 196, 197). miRNA'lar hedef mRNA üzerinde genellikle 3'-UTR bölgesine bağlanarak gen ifadesini baskı- lar. Bununla birlikte 5'-UTR bölgesini veya *açık okuma çerçevesini (ORF-open reading frame)* hedef aldıkları durumlarda da gen ifadesi baskılanır (195, 197, 206).



Şekil 7: MikroRNA biyogenezini (Wu C, Tian B, Qu X, Liu F, Tang T, Qin A, et al. MicroRNAs play a role in chondrogenesis and osteoarthritis (review). Int J Mol Med. 2014; 34(1):13-23.)

2.3.2. OA ile İlişkili miRNA'lar

OA patogenezinde yer alan miRNA'lar ile ilgili çalışmalar her geçen gün artarak devam etmektedir. miRNA'lar mezenşimal kök hücrelerden kondrosit oluşumunda, apoptoziste, inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında, ECM yıkıcı enzimlerin ve faktörlerin salınımında yer alan çeşitli transkripsiyon faktörleri ve büyüme faktörlerini hedef alarak OA patogenezinde rol oynar. Bunlara örnek olarak Sox ailesi (Sox9, Sox5 ve Sox6), BMP'ler, CCN2, COL2A1, ACAN, RUNX2, MMP13, Noggin 3, Smad1, TGFBR2 gibi faktörler, DKK1 ve FRZB gibi Wnt blokerleri verilebilir. Bazı mikroRNA'ların etki mekanizması henüz bilinmemektedir (207).



Şekil 8: OA'da yer alan mikroRNA'lar (Wu C, Tian B, Qu X, Liu F, Tang T, Qin A, et al. MicroRNAs play a role in chondrogenesis and osteoarthritis (review). *Int J Mol Med.* 2014; 34(1):13-23.)

2.3.3. IL-17

Inflamatuvar sitokin ve kemokinler otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Çeşitli patojenlerle karşılaşan doğal bağışıklık sistemi hücrelerinin ürettiği spesifik sitokinlerin varlığında T hücre reseptörleriyle (TCR) (sinyal 1) kostimulatuvar moleküllerin (sinyal 2) etkileşmesiyle, CD4+ T hücrelerin efektör T hücrelerine farklılaşması başlar. Interferon γ (IFN γ) ve IL-12, yüksek miktarda IFN γ üreten ve hücre içi patojenlerin temizlenmesinde etkin olan Th1 hücrelerine farklılaşmayı başlatır. IL-4 ise Th2 hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 üretir ve ekstraselüler patojenlerin temizlenmesinde, allerjik durumlarla mücadelede anahtar rol oynar, B hücrelerinin spesifik antikor üretimine yardımcı olur (208). Farklı sitokinler, immün yanıtı seçici olarak bir Th1 veya Th2 yanıtına yönlendirebilirler. T hücre farklılaşmasındaki Th1/Th2 modeli ilk olarak yaklaşık 25 yıl önce Mosman ve Coffman tarafından öne sürülmüş ve bağışıklık sisteminde birçok olayın aydınlatılmasına yardımcı olmuştur (209). Son zamanlarda yardımcı T hücre farklılaşmasında Th1/Th2 modeli, Th1 ve Th2'den farklı özelliklerde IL-17 üreten Th17 olarak adlandırılan üçüncü bir yardımcı efektör T hücrelerinin keşfiyle değişmiştir. Th17 hücrelerinin primer fonksiyonları Th1 ve Th2 hücreleri tarafından etkin biçimde temizlenemeyen patojenlerin yok edilmesini sağlamaktır. Bu amaca yönelik olarak Th17 hücreleri hızlı bir şekilde inflamasyon alanında görülür, doğuşsal ve edinilmiş bağışıklık arasında köprü görevi görür ve diğer Th hücrelerini de alana çağırır. Th17 hücreler doku inflamasyonunun temel tetikleyicilerindendir ve otoimmün hastalıkların ve artrit gibi çeşitli inflamatuvar durumların patogeneziyle ilişkili oldukları saptanmıştır (208).

2.3.4. Osteopontin

Osteopontin (OPN) yaklaşık 32 kD bir protein olarak sentezlenir, fakat geniş posttranslasyonel modifikasyonlar sebebiyle moleküler kitlesi 45-75 kD arasında değişir (210). OPN asidik aminoasitler nedeniyle negatif yüklüdür. OPN kalsiyum bağlama bölgeleri ve iki heparin bağlayıcı alan içerir (216). OPN, aktive edilmiş T hücreleri, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen önemli kollajen olmayan kemik matriks proteinlerinden biridir (214). Birçok patolojik ve fizyolojik olayda sekrete edilir. Hem sitoplazma hem de çekirdekte bulunduğu saptanmıştır (211). OPN ilk olarak kemikten izole edilmiştir (212). Birçok çalışma OPN'nin en önemli fizyolojik fonksiyonunun biomineralizasyonun kontrolü olduğunu göstermiştir (213). Ancak OPN

sadece kemik mineralizasyonunda değil hücre adezyon ve migrasyonunda, embriyo gelişiminde, tümörögenizde biyoaktiviteye sahip geniş yelpazeli bir proteindir (215).

Birçok çalışmada inflamasyonda osteopontinin makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (211). Inflamasyonda osteopontin salınımını düzenleyen moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. OPN'nin monosit kemotaksisi, göçü, farklılaşması ve fagositozu dahil hücrel bağışıklık fonksiyonlarını kontrol ettiği kabul edilmektedir. OPN, bu fonksiyonlarını hücre yüzey reseptörleri ile doğrudan etkileşim yoluyla gerçekleştirir (211).

OPN'nin, OA moleküler patogenezinde yer aldığı ve eklem kıkırdağı dejenerasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (214).

2.3.5. miRNA-129-3p

miRNA-129-3p'nin hepatoselüler karsinom, renal hücreli karsinom ve glioblastom ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (25, 26, 27). Yapılan çalışmalarda metastatik prostat kanseri patogenezinde ve CP110 inhibisyonu ile meme kanserinde hücrelerde docataxel direncinde de rolü olduğu gösterilmiştir (28, 29).

Murugaiyan ve arkadaşları (2010) çalışmalarında OPN ve IL-17'nin kronik inflamatuvar süreçlerde birlikte hareket eden pro-inflamatuvar sitokinler olduklarını ileri sürmüşlerdir (217). Bu iki molekülün OA patogenezinde yer aldıkları bilinse de rolleri tam olarak anlamamıştır.

Richter ve arkadaşları (2012) sıçan eklem nosiseptörlerinden aksiyon potansiyeli kaydı alarak yaptıkları çalışmada IL-17'nin, nosiseptif nöronlarda IL-17 reseptörlerini hedefleyerek bir ağrı aracısı olarak hareket etme potansiyeline sahip olduğunu ve bu reseptörlerin özellikle inflamasyonla uyarılmış mekanik hiperaljezide rol oynadıklarını göstermişlerdir (35).

Liu ve arkadaşlarının (2015) 226 osteoartritli hasta ve 106 kişilik kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada IL-17 seviyesinin OA şiddeti ile negatif korele olduğu fakat ağrının şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (34). IL-17'nin RANKL sentezini artırarak kemik rezorpsiyonuna yol açtığı ve osteoartritteki subkondral kemik değişikliklerinde de etkili olduğu bilinmektedir (218).

Dong X ve arkadaşları (2013), Osteopontin seviyelerinin Osteoartritli hastalarda inflamasyonun şiddeti ile korele olduğunu ancak hastalığın şiddeti ile ters orantılı olduğunu

bildirmişlerdir (219). Ayrıca Matsui ve arkadaşları (2009) osteopontin eksikliğinin hem yaşlanma ilişkili hem de instabilite kaynaklı OA'yı şiddetlendirdiğini göstermişlerdir (214).

Literatürde miR-129-3p'nin osteoartritle ilişkisine dair bilgi bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada miR-129-3p'nin osteoblastlarda, insan IL-17 geninin 3'-UTR bölgesine bağlanarak IL-17 translasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyonun Osteopontin tarafından Syk-PI3K-Akt sinyalizasyonu ile miR-129-3p'nin düzenlenmesi aracılığıyla olduğu kanıtlanmıştır (33).

miRNA-129-3p'nin CP110 ve aktin dinamikleri üzerinden silyajenezi etkilediği bilinmektedir (32). Primer silya sayısı, uzunluk ve oranının OA kondrositlerinde arttığı bildirilmiştir (31). Kondrositlerde mekanik transduksiyonda duysal iletide rol oynadıkları düşünölen bu hareketsiz silya grubunun oranlarındaki artışın kondrositlerde de miRNA-129-3p ekspresyonu artışı ile ilişkili olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Yöntem

Bu çalışmaya 2017-2018 yıllarında İstanbul Arnavutköy Devlet Hastanesi Ortopedi Kliniği'ne başvuran, primer diz OA'lı (Kellgren-Lawrence'a göre evre 3-4) 31 hasta ve ÖÇB rüptürlü (Kellgren-Lawrence'a göre evre 0, Outerbridge'a göre evre 0) 13 hasta dahil edildi. Materyel olarak; ileri evre OA'lı hastalardan total diz artroplastisi esnasında, ÖÇB rüptürlü kıkırdak hasarı olmayan hastalardan ise artroskopik rekonstruksiyon esnasında alınan sinovyal sıvılar kullanıldı. OA'lı bireyler hasta grubu, ÖÇB rüptürlü bireyler ise kontrol grubu olarak seçildi.

18 yaş altı hastalar, malignitesi olan hastalar, sistemik enfeksiyonu olup genel durumu iyi olmayan hastalar, kognitif fonksiyon bozukluğu olanlar, psikoza olanlar, gebeler, lohusalar ve emziren kadınlar, kısıtlı kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Ön çapraz bağ rüptürlü hastalarda sinovyal sıvı alındıktan sonra artroskopi esnasında Outerbridge evrelemesi yapılabildiği için kıkırdak hasarı bulunan hastaların sinovyal sıvıları çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubunda akut dönemde opere edilen hasta bulunmamaktadır.

Çalışma için İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü onayı, İstanbul Arnavutköy Devlet Hastanesi Başhekimliği onayı ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı. Araştırmaya katılan hasta ve kontrol grubundaki bireylerin sinovyal sıvıları gönüllülük esasına dayanarak etik kurallar çerçevesinde toplanmıştır. Hem hasta hem de kontrol grubundaki gönüllüler, çalışmaya katılmadan önce çalışmanın amacı ve içeriği hakkında açık bir dille bilgilendirilmiştir (Ek 1). Tüm hastalarda tam fiziki muayene yapıldı. Osteoartritli grubun direkt grafileri görüldü ve ÖÇB rüptürlü hastaların manyetik rezonans görüntülemeleri incelendi. Operasyon öncesi rutin kan tetkikleri değerlendirildi.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Biyokimya Ana Bilim Dallarının laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada gerçek zamanlı polimeraz zincirleme tepkimesi (real-time PCR) metodu kullanılmıştır.

Çalışmaya katılan gruplardan 1,5-3 ml sinovyal sıvı alındı. Alınan örnekler eppendorf tüplere aktarıldı. Materyaller iki saat içinde 3000g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant farklı eppendorf tüplere aktararak deney gününe kadar -80° soğutucuda saklandı.

Hasta ve kontrol grubunun evrelendirilmesi Tablo 3 ve Tablo 4’de belirtilen kriterlere göre yapıldı.

Tablo 3: Kellgren-Lawrence radyolojik evrelemesi

Evre 0	Normal
Evre 1	Minimal osteofit, normal eklem mesafesi
Evre 2	Belirgin osteofit, eklem mesafesinde kuşku daralma
Evre 3	Belirgin osteofit ve eklem mesafesinde orta dereceli daralma
Evre 4	Büyük osteofitler, kistler ve eklem mesafesinde belirgin daralma

Tablo 4: Outerbridge sınıflaması*

0	Normal kıkırdak
1	Kıkırdakta yumuşama, pinpon topu bulgusu
2	Çapı 1,5 cm’i geçmeyen parsiyel kalınlıkta ve subkondral alana ulaşmayan defekt veya fissürler
3	Subkondral kemik seviyesine ulaşan fissür, çapı 1,5 cm’i geçen defekt alanı
4	Subkondral kemiğin tamamen açığa çıktığı lezyon

*Kıkırdak hasarının artroskopik olarak sınıflandırılmasıdır.

3.2. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (RT-PCR)

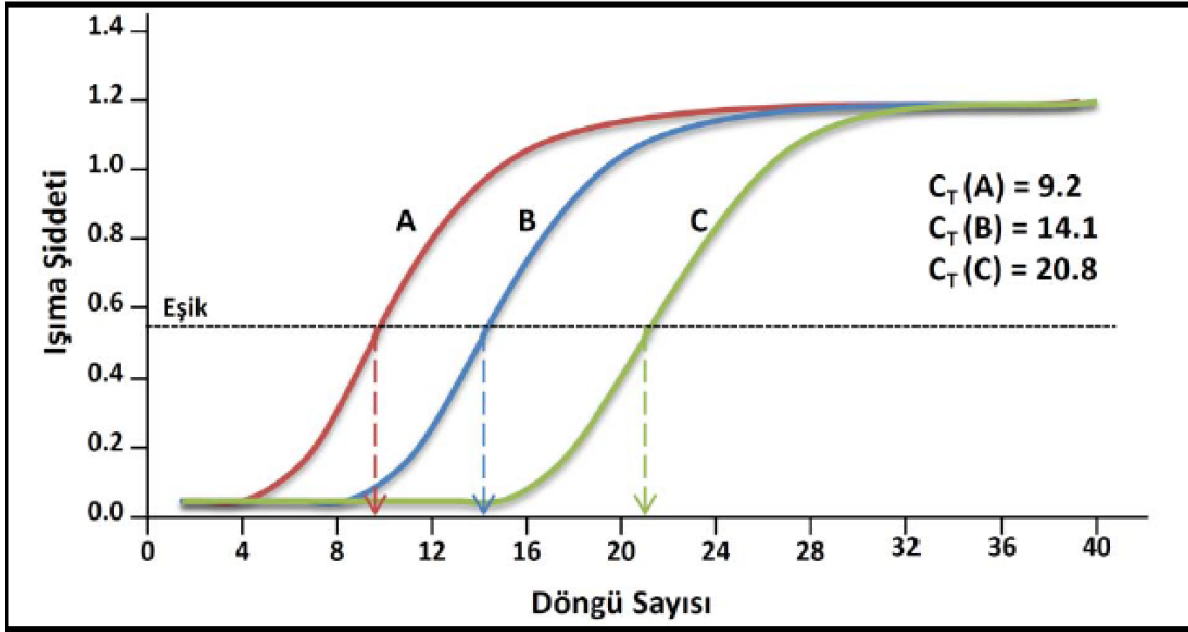
RT-PCR temeli polimeraz zincirleme tepkimesine dayanan, DNA moleküllerini çoğaltmak ve eş zamanlı olarak miktarını ölçmek için sıklıkla kullanılan bir laboratuvar tekniğidir. Bu tekniğe nicel gerçek zamanlı polimeraz zincirleme tepkimesi (qPCR - quantitative real time polymerase chain reaction) ya da kinetik polimeraz zincirleme tepkimesi denilmektedir.

PCR, tek ya da az sayıda DNA molekülünü kopyalama yoluyla milyonlarca kopya haline getirmek için kullanılan yarı-nicel bir tekniktir. PCR, sırasıyla ve mükerrer olarak, ısıyla DNA moleküllerinin birbirinden ayrılması ve tekrar soğutularak primer denilen diziyeye özel küçük DNA parçalarının (oligonükleotidler) tepkimeyi başlatması sonucu, DNA'nın kopyalanması esasına dayanır. Bir PCR tepkimesi çift sarmallı DNA molekülünün 95 °C'ye ısıtılarak sarmalın çözülmesi ile başlar. Daha sonra, ıslığı 50–60 °C düşürerek çoğaltılmak istenen DNA dizisinin 3' uçlarına özel olarak tasarlanan sentetik oligonükleotidlerin DNA'ya bağlanması sağlanır. Tepkime tüpünde bulunan deoksinükleotidler (dNTP) ıslığı dayanıklı Taq polimeraz enzimi ile yeni DNA molekülünün sentezlenmesi için kullanılırlar. Bu enzim kaplıca gibi sıcak kaynak sularında yaşayan *Thermus aquaticus* bakterilerinden elde edilir. Bu enzim ıslığı tekrar 95 °C çıkarıldığında dahi yapısını korur ve 72 °C kadar olan sıcaklıkta katalitik olarak görev yapabilir. Sentez işlemi bitince tepkime tüpü tekrar 95 °C çıkarılır ve bütün işlem tekrarlanır. Bu tekrarlama işlemi sonucunda istenilen DNA dizisi kopyalanmış ve yaklaşık 20 döngü sonunda tek bir DNA molekülünün bir milyondan fazla kopyası yapılmış olur. Bu işlem sırasında kopyalanması istenilmeyen DNA dizileri kopyalanmaz ve tek kopya halinde kalırlar (220).

Bütün tepkime işlemi sonrasında, DNA molekülleri etidyum bromit içeren akrilamid jellere yüklenir ve boyutlarına göre ayrılır. Bu sayede kopyalanmış DNA molekülleri görüntülenebilir. Bütün tepkime tüplerindeki örnekler aynı işlemde geçtikleri için, akrilamid jel üzerinde farklı DNA bant büyüklükleri, örnekler arasında farklı DNA miktarı olduğunu bu da bize başlangıçta örnek tüplerinde istenilen DNA miktarlarının farklı olduğunu belirtir. Böylece farklı örnekler birbirlerine göre değerlendirilmiş olurlar. Ancak, PCR yönteminin dezavantajlarından biri döngü sayısı arttıkça örneklerin kopyalanmasında DNA miktarının plato denilen doymuşluk seviyesine ulaşması ve akrilamid jel üzerinde yorum yapmayı zorlaştırmasıdır. Bu doymuşluk seviyesi sorununu aşabilmek için her döngüden sonra DNA miktarının gerçek zamanlı olarak ölçüldüğü RT-PCR tekniği gibi teknikler kullanılmaktadır. RT-PCR, her PCR döngüsünden sonra tepkime tüplerindeki DNA miktarının akrilamid jelle-

re gerek kalmadan ölçülmesi temeline dayanan karmaşık ve sıklıkla kullanılan bir tekniktir. RT-PCR ihtiyaçlar doğrultusunda tasarlanmış gelişmiş bir PCR yöntemidir. RT-PCR'ın PCR'a göre daha avantajlı olmasının sebeplerinden biri de, PCR'da gerek duyulan nanogram (10^{-9} g) seviyesindeki başlangıç materyaline oranla pikogram (10^{-12} g) ve hatta femtogram (10^{-15} g) seviyelerindeki başlangıç materyalleriyle de kullanılabilmesidir. Bu hassasiyet özelliği RT-PCR'da etidyum bromit yerine kullanılan ışınır (floresan) moleküllerden kaynaklanır. Son yıllarda, gerçek zamanlı DNA sentezinin görüntülenmesi amacıyla farklı ışınır moleküller geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Bunlar arasında yüksek hassasiyet ve kolay kullanım kapasiteli SYBR Green molekülü öne çıkanlardan birisidir. SYBR Green, çift sarmallı DNA moleküllerine bağlanması sonucu belli dalga boyunda uyarılarak yine belli dalga boylarında ışımaya yapar. Tepkimede döngü sayısı ilerledikçe daha fazla çift sarmallı DNA molekülü sentezlendiği için daha fazla SYBR Green DNA'ya bağlanır ve daha fazla ışımaya yapar. Her döngü sayısından sonraki DNA miktarı aynı zamanda başlangıçta tüplerde bulunan DNA miktarıyla doğru orantılıdır. Her döngü sonunda tepkime tüplerindeki ışımaya miktarını ölçerek, tüplerdeki çift sarmallı DNA moleküllerinin miktarını da belirlemiş oluruz (220).

Bu zincirleme tepkimelerinde RT-PCR makineleri kullanılır. Bu makineler aynı anda hem DNA miktarını çoğaltırlar hem de ışımaya miktarını ölçerler. Bünyesinde hem bir thermal cycler (içinde tepkime tüplerinin yerleştirildiği ve hızlıca ısıtılan ve soğutulan ısı bloğu bulunduran cihaz, bu sayede DNA kopyalanmasını sağlar) hem de bir fluorimetre (farklı dalga boylarında ışık üreterek tüplerdeki molekülleri uyaran –bu örnekte SYBR Green- ve aynı zamanda uyarılan moleküllerin yaptığı farklı dalga boylarındaki ışımaya ölçebilen cihaz) bulundurur. Bu cihazın yapılan ışımaya ölçebilmesinin bir eşik değeri vardır. Bu eşik değerinin altındaki bütün sinyaller yokmuş gibi değerlendirilir. Zincirleme tepkimesi ilerledikçe, bu eşik değerine daha erken döngülerde (düşük döngü sayısı) ulaşan örnekler, başlangıç örneğinde daha çok istenilen DNA dizisinin varlığını belirtir. Bu değere döngü eşiği (CT – cycle threshold) değeri denir (Şekil 9). CT değeri, eşik değerine ulaşılması için gereken döngü sayısı olarak tanımlanır. CT değeri başlangıç örneğinde bulunan DNA miktarıyla ters orantılıdır. Başka bir ifadeyle küçük CT değeri daha büyük başlangıç materyali anlamına gelir (221).



Şekil 9: Hayali bir RT-PCR sonucu grafiği. A, B ve C örneklerinin CT değerleri gösterilmiştir.

RT-PCR sonuçlarını değerlendirmek için iki yöntem vardır, görece ya da karşılaştırmalı (relative ya da comparative) ve mutlak (absolute) değerlendirme. Bu çalışmada görece değerlendirme yapılmıştır.

Görece değerlendirme, birçok örneğin deney içi kontrol seviyesine göre normalize edilmesi sonucu örneklerdeki istenilen DNA ya da mRNA miktarının örnekler arasındaki azlık ya da çokluk durumunu belirler. Deney içi kontrol olarak kullanılan diziler genelde bütün örneklerde eşit miktarda olduğu bilinen ve aynı tüp ya da ayrı bir tüpte yine PCR ile çoğaltılan nükleik asitlerdir. Dolayısıyla, görece değerlendirme yapılırken konsantrasyonu bilinen bir standart örneğinin kullanılmasına gerek kalmaz. Görece değerlendirme gen anlatımı seviyesindeki fizyolojik değişimlerin ölçülmesi için yeterli seviyede bir değerlendirme değildir. Tekrar edecek olursak, görece değerlendirme farklı örneklerdeki istenilen DNA dizisinin CT değerlerinin eşit seviyedeki bir deney içi kontrole göre normalize edilmesi esasına dayanır. Bu değerlendirme örnekler arasında azlık ya da çokluk; ya da katlar cinsinden sonuç verir (örneğin, bir örnekte istenilen DNA dizisi miktarı diğer örnektekinin 2 katıdır). Görece değerlendirme CT değerleri kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanır (Şekil: 10) (221).

Katlı Anlatım Seviyesi = $2^{-((C_{TA} - C_{TAHK}) - (C_{TB} - C_{TBHK}))}$	C_{TA} = A örneği C_T değeri $C_{TADİK}$ = A örneği deney içi kontrol C_T değeri C_{TB} = B örneği C_T değeri $C_{TBDİK}$ = B örneği deney içi kontrol C_T değeri
Katlı Anlatım Seviyesi = $2^{-((-4,06) - (-3,44))}$ = 1,54	

Şekil 10: RT-PCR sonucunun görece değerlendirilmesi için kullanılan formül

Bu normalize edilmiş hayali hesaplama sonucu, A örneğinde istenilen DNA miktarının B örneğine göre 1,54 kat fazla olduğu görülebilir.

RT-PCR laboratuvarlarda birçok amaçla kullanılırlar. Sıklıkla tanısal ve temel araştırma yapmak için kullanılır. Tanısal amaçla RT-PCR, belirli enfeksiyonel hastalıklara, kansere ya da genetik bozukluklara sebep olduğu bilinen nükleik asit seviyelerinin belirlenmesi için kullanılır. Araştırma amaçlı olarak ise, gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için kullanılır. Örnek olarak, belirli bir genin ekspresyon seviyesinin gelişme süresince ya da hücre döngüsünde, kullanılan farmakolojik ilaçlara göre tepki olarak, çevresel faktörlere bağlı olarak ya da hücre farklılaşması sürecinde ne yönde değiştiğinin tespitinde kullanılabilir. RT-PCR'da başlangıç materyali olarak RNA, genomik DNA ya da plasmid DNA'sı kullanılabilir. Herhangi bir RNA (mRNA, rRNA, mikroRNA) kullanılacağı takdirde, RNA'nın önce ters-transkripsiyon tepkimesi işlemiyle tümleyicisi-komplementeri olan DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi gerekir (220).

3.3. Total RNA İzolasyonu

Çalışmamızda Extractme miRNA kiti kullanıldı. MiRLys tamponuna %1 oranında %100 beta-merkaptotanol eklendi. MiRW tamponuna uygun miktarda %96-100 etanol eklendi (13,5 ml tampona 31,5 ml etanol). MiRLys ve MiREB tamponları +4 °C'de saklandı. MiRLys tamponu güneş ışığından korundu. Kitteki tamponlar iyice karıştırıldı. MiRLys tamponu hariç diğer tamponlar iyice karıştırıldı. MiRLys ve MiRW tamponlarında tortu olup olmadığı kontrol edildi. Ayrıştırılmış RNA'yı saklamak için dondurulmuş raflar hazırlandı ve izolasyon prosedürüne başlandı. Dondurulmuş materyal 37 °C'de eritildi. 3 k x g de santrifüj edildi. 400 µl MiRLys tamponu eklendi. 30 sn vorteksle iyice karıştırıldı. Sonrasında herşey yeni 2 ml'lik bir tübe aktarıldı. 2 dakika 18 k x g de santrifüj yapıldı.

Supernatant toplama tüpünde bulunan DNA bağlama kolonunun içine transfer edildi. 2 dakika 18 k x g de santrifüj yapıldı. DNA ayırmak (pürifikasyonu) için minikolon saklandı. Filtreden akıp giden materyal steril bir mikrosantrifüj eppendorf tüpüne aktarıldı. Materyale yarı hacminde etanol eklendi. (400 µl hacminde filtreden akıp giden sıvı varsa 200 µl etanol eklenmeli.) 5 saniye vorteksle karıştırıldı.

Daha sonra karışım toplama tüpünün içindeki büyük RNA bağlama kolonuna aktarıldı. 2 dakika 18 k x g de santrifüj yapıldı. RNA ayırmak (pürifikasyonu) için minikolon saklandı. Filtreden akıp giden sıvı 1.5-2 ml'lik mikrosantrifüj eppendorf tüpüne transfer edildi. Filtreden akıp giden sıvı ile aynı hacimde % 96-100'lük etanol eklendi. Etanol ekledikten sonra 5 saniye vorteksledi.

Toplama tüpünde yer alan miRNA bağlama kolonuna elde edilen karışımın 650 µl'si transfer edildi. 2 dakika 18 k x g de santrifüj yapıldı. Kalan filtreden akıp giden sıvı atıldı. Toplama tüpüyle birlikte kolon yeniden kullanıldı. Artan- arda kalan karışım aynı miRNA bağlama kolonuna transfer edildi. 2 dakika 18 k x g de santrifüj yapıldı. Filtreden akıp giden sıvı atıldı.

DNA, RNA ve miRNA bağlı minikolonlar hazırlandı. Hazırlanmış minikolonlara 500 µl MiRW tamponu eklendi. 1 dakika 15 k x g de santrifüj edildi. Filtreden akıp giden sıvı atıldı ve toplama tüpü yeniden kullanıldı. Tekrar 500 µl MiRW tamponu minikolonlara eklendi 1 dakika 15 k x g de santrifüj edildi. Filtreden akıp giden sıvı atıldı ve toplama tüpü yeniden kullanıldı. Tekrar 500 µl MiRW tamponu minikolonlara eklendi. 1 dakika 15 k x g de santrifüj edildi. Filtreden akıp giden sıvı atıldı ve toplama tüpü yeniden kullanıldı. 3 dakika 18 k x g de santrifüj edildi. Toplama tüpü ve filtreden akıp giden sıvı atıldı.

Minikolonlar dikkatli bir şekilde 1,5 ml'lik steril mikrosantrifüj eppendorf tüplerine transfer edildi. 50 µl elüsyon tamponu MiREB tam olarak pürifikasyon minikolonlarının merkezine üstüne eklendi. Minikolon oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi. 2 dakika 10 k x g de santrifüj yapıldı. Minikolon uzaklaştırıldı ve eluted (ayrıştırılmış) RNA'nın bulunduğu tüp dondurulmuş rafa yerleştirildi.

Böylelikle izole RNA ve DNA'lar alt uygulamalar için hazır hale getirildi. Komplementer DNA (cDNA) sentezi öncesi aynı derişimde RNA içeren örnek hazırlamak için nanospektrofotometre ile RNA ölçümleri yapıldı.

3.4. Komplementer DNA sentezi

Örnekler 7 ng/ μ l RNA içerecek şekilde nükleaz içermeyen suyla 14 μ l'ye tamamlandı. Kısa süre plate nazikçe döndürüldü. 96'lı plate'e dizildi. Her bir örneğe aşağıdaki reaktifler eklendi.

- 1 mikrolitre **primer mix** eklendi(0,5 mikrolitre RNU44 + 0,5 mikrolitre miR-129-3p)
- 1 mikrolitre **dNTP karışımı** eklendi.
- 2 mikrolitre **reverse transkriptaz reaksiyon tamponu** eklendi.
- 1 mikrolitre **riboprotect RNase İnhibitör** eklendi.
- 1 mikrolitre **transkript me reverse transkriptaz** eklendi.

İç kontrol için RNU44 kullanıldı.

Örneklerin toplam hacimleri 20 mikrolitre idi.

30 sn plate nazikçe döndürüldü. 50 °C'de 30 dakika, 85 °C'de 5 dakika inkübe edildi. Sonrasında örnek hızlı bir şekilde buz üzerine alındı. **Transcript me RNA kiti** kullanılarak kalıp RNA'dan tek iplikli komplementer DNA (cDNA) sentezlendi. Böylelikle cDNA'lar RT-PCR için direk kullanıma hazır hale geldi. Elde edilen cDNA'lar -20 °C 'de saklandı.

3.5. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesine Hazırlık

RT-PCR için cDNA -20°C'den çıkarıldı. 96'lı kuyucuklarda çift kontrol olacak şekilde iki örnek hazırlandı. Örnekler ikili çalışıldı. Her bir kuyucuğa;

- Sybr green 10 mikrolitre (Rox boya ekli Sybr green)
- Universal primer 0,5 mikrolitre
- Özgül primer 0,5 mikrolitre (129-3p veya RNU44)
- DNaz RNaz içermeyen su 6 mikrolitre
- cDNA 3 mikrolitre eklendi.

Totalde 20 mikrolitre olacak şekilde kuyucuklar dolduruldu.

Plate santrifüjünde karışım sağlamak için spin atırıldı. PCR koşulları 50°C 2 dk, 95 10 dk, ve bağlanma için 95°C 15 sn, 60°C 60 sn toplamda 40 döngü olacak şekilde gerçekleştirildi. Erime eğrisi analizi yapıldı.

Tablo 5: PCR’da kullanılan primer dizileri

HEDEF	İLERİ PRİMER DİZİSİ	GERİ PRİMER DİZİSİ
miR-129-3p	GCAAGCCCTTACCCCA	EVRENSEL PRİMER
RNU-44	CCTGGATGATGATAAGCAAATG	EVRENSEL PRİMER

3.6.İstatistiksel Analiz Metodu

Ortalama \pm SS. Gruplar arası karşılaştırmalarda, normal dağılım ve eş değişkenlilik gibi gerekli şartlar sağlanarak ‘Mann-Whitney U’ testi kullanıldı. Pearson'un Ki-kare testi, kategorik değişkenler arasındaki oranlar veya ilişkiler arasındaki farkları belirlemek için kullanıldı. Tüm olgular için istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak belirlendi. İstatistiksel analizler IBM SPSS (Windows için Sağlık Bilimleri için İstatistik Paketi, Sürüm 21.0, Armonk, NY, IBM Corp.) paket programı ile sağlandı.

4. BULGULAR

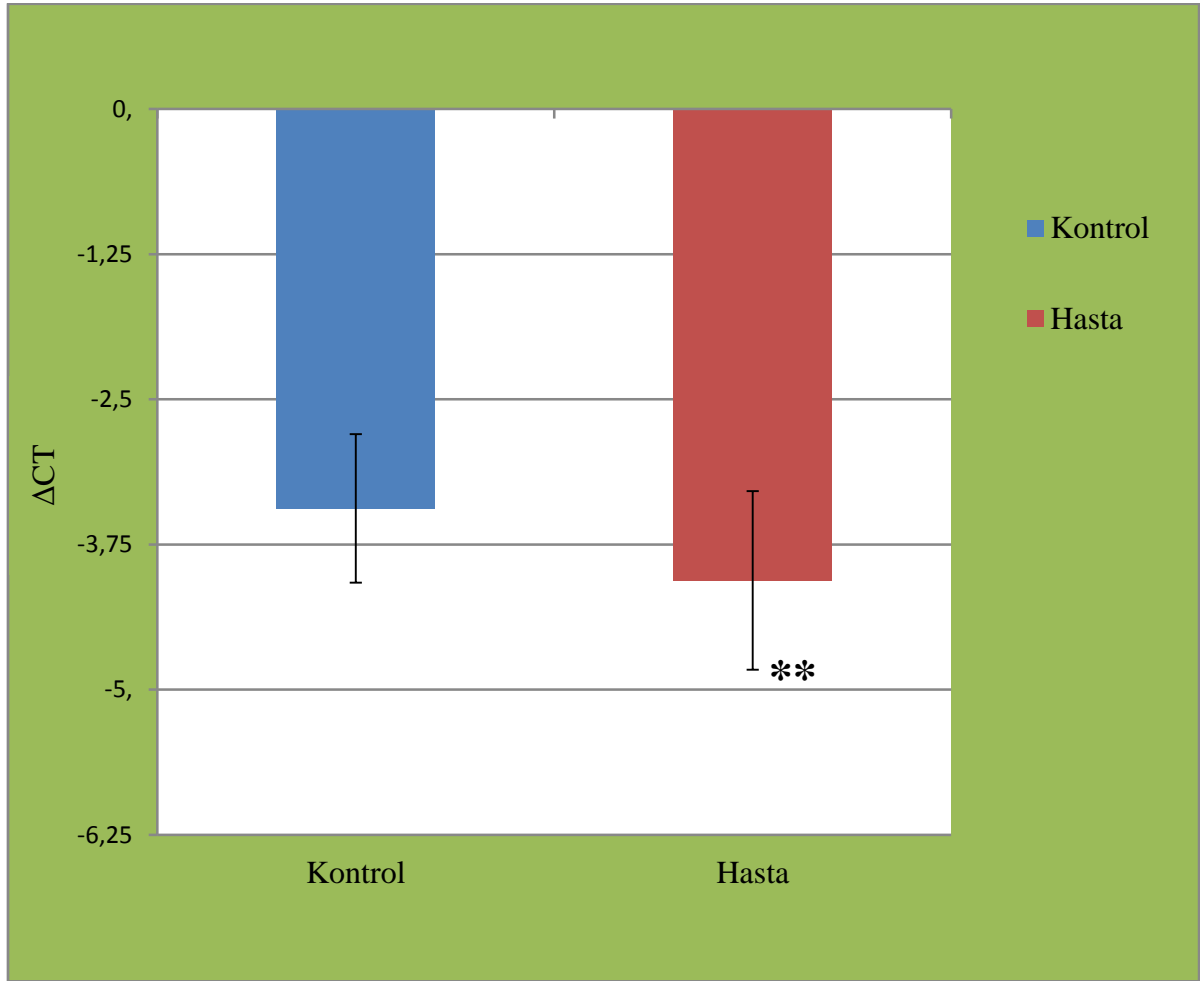
Çalışmamızda ileri evre (Kellgren-Lawrence evre 3-4) OA'lı hastaların sinovyal sıvılarında miRNA-129-3p ekspresyonunun, kıkırdak hasarı bulunmayan (Kellgren-Lawrence evre 0, Outerbridge evre 0) ÖÇB rüptürlü hastaların sinovyal sıvılarındaki miRNA-129-3p ekspresyonlarına göre 1.54 kat daha fazla olduğu saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 6, Şekil 11).

Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen verilerin ortalama \pm standart sapma, medyan ve p değerleri

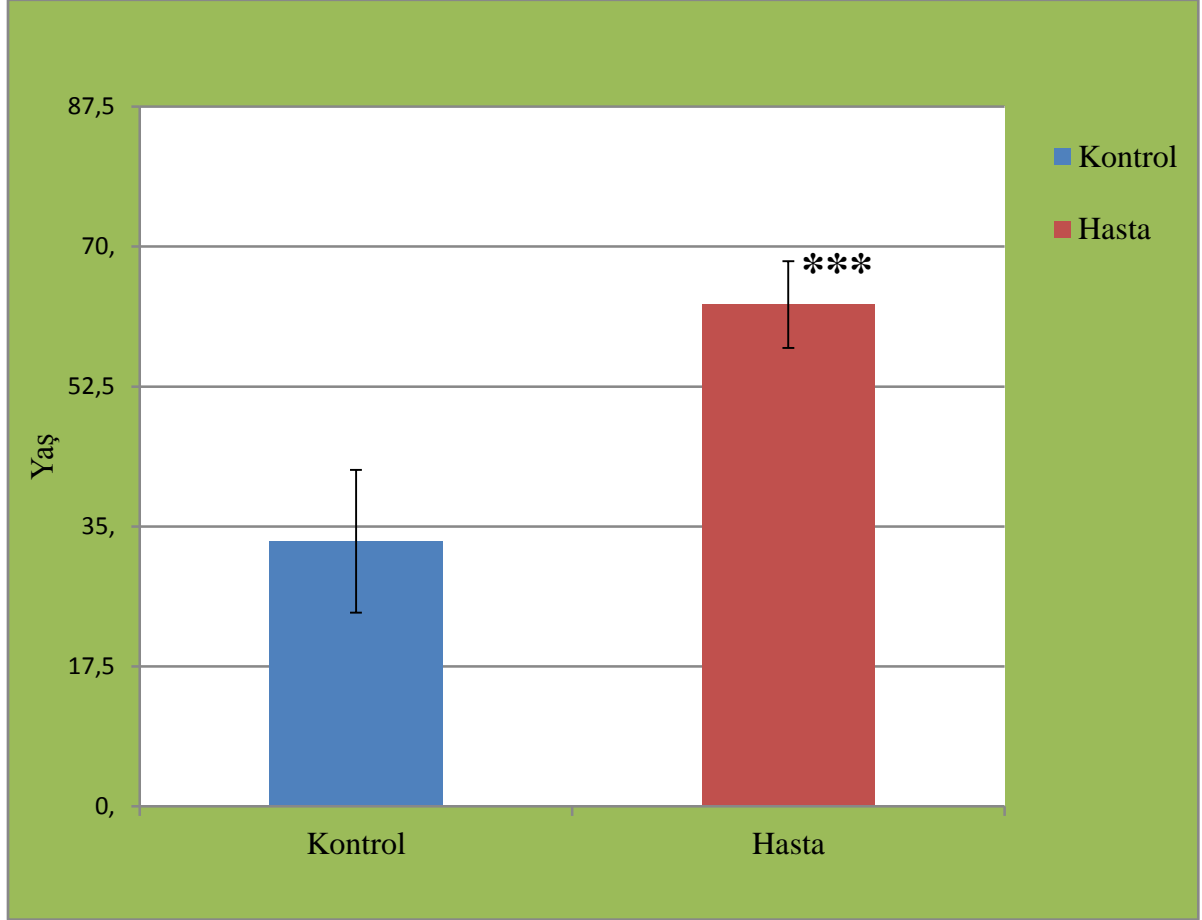
	Kontrol Ortalama \pm SD	Hasta Ortalama \pm SD	p
	Kontrol Medyan (Min-Maks)	Hasta Medyan (Min-Maks)	
Yaş	33.15 \pm 8.91	62.77 \pm 5.42	0.001
	35 (18 - 47)	63 (53 - 72)	
Boy	168.62 \pm 5.72	163.97 \pm 7.07	0.06
	168 (160 - 178)	165 (150 - 180)	
Kilo	73.62 \pm 8.26	86.29 \pm 14.25	0.002
	78 (55 - 85)	85 (65 - 135)	
Vki	25.86 \pm 2.45	32.34 \pm 6.58	0.001
	26.1 (21.5 - 29.4)	31.2 (23.9 - 52.7)	
CRP	2.47 \pm 1.46	5.78 \pm 3.47	0.001
	2.64 (0.56 - 5.29)	4.75 (0.9 - 13.38)	
Wbc	7.69 \pm 2.05	7.78 \pm 1.74	0.62
	6.66 (5.38 - 10.82)	7.65 (4.71 - 12.22)	
ΔCT	-3.44 \pm 0.64	-4.06 \pm 0.77	0.01
	-3.35 (-4.98 - -2.57)	-4.24 (-5.74 - -2.07)	

Tablo 7: Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre yüzde dağılımları

Cinsiyet	Kontrol	Hasta
Erkek	9 (52.9%)	8 (47.1%)
Kadın	4 (14.8%)	23 (85.2%)

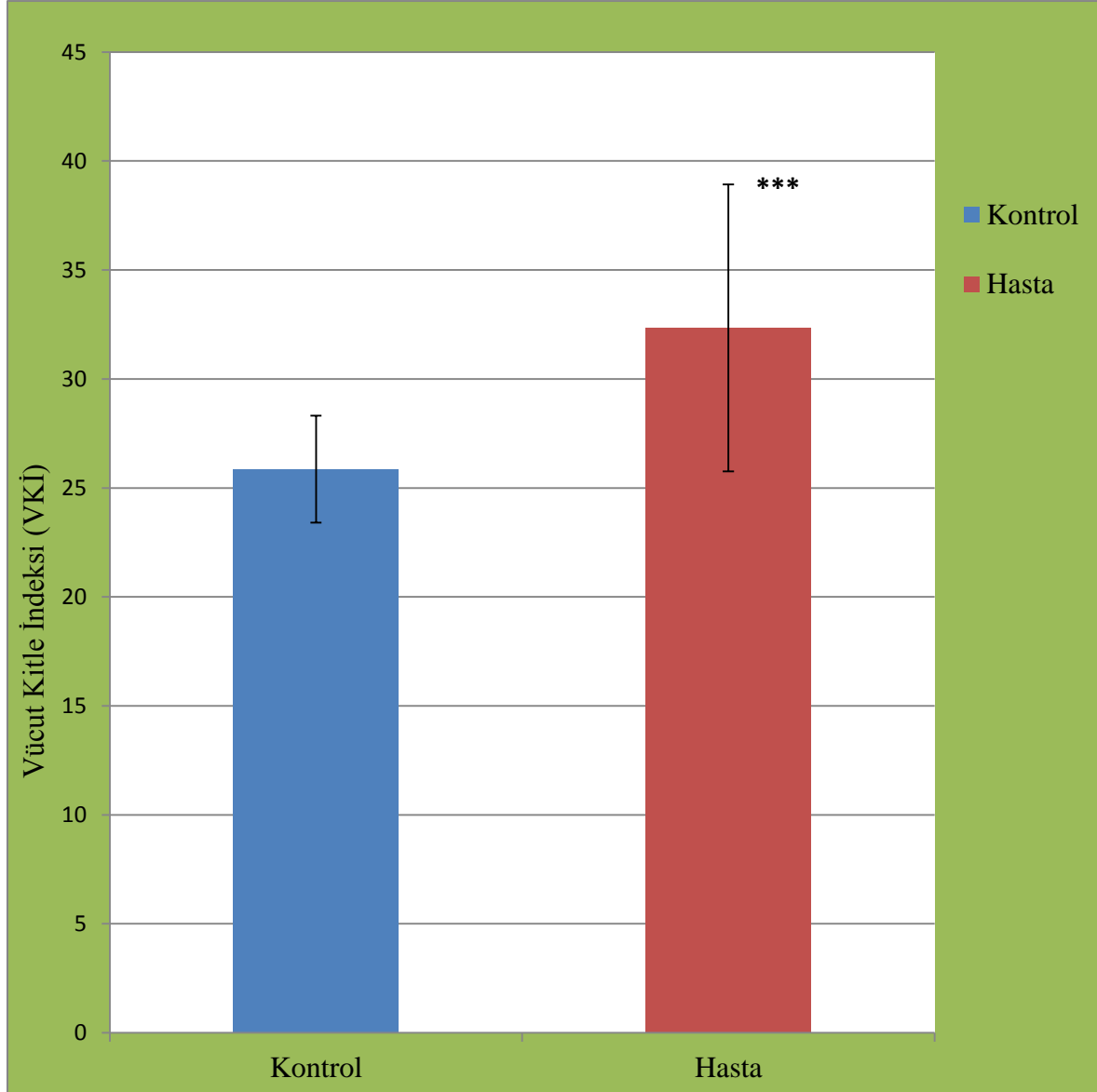
**Şekil 11: Hasta ve kontrol gruplarının ΔCT değerlerinin karşılaştırılması ** $p < 0,01$**

Hasta grubunda yaş kontrol grubuna oranla oldukça farklılık göstermektedir (Hasta yaş: 62.77 ± 5.42 , Kontrol yaş: 33.15 ± 8.91 , $p < 0.001$) (Tablo 6, Şekil 12).



Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamalarının karşılaştırılması
*** $p < 0,001$

Hasta grubunda vücut kitle indeksi kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu (Hasta VKİ:32.34 ± 6.58, Kontrol VKİ:25.86 ± 2.45, p değeri <0.001). VKİ 25-29.9 aralığında olan hasta (n: 10) ve kontrol grupları (n: 9) Δ CT değerlerine göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.21) (Tablo 6, Şekil 13).



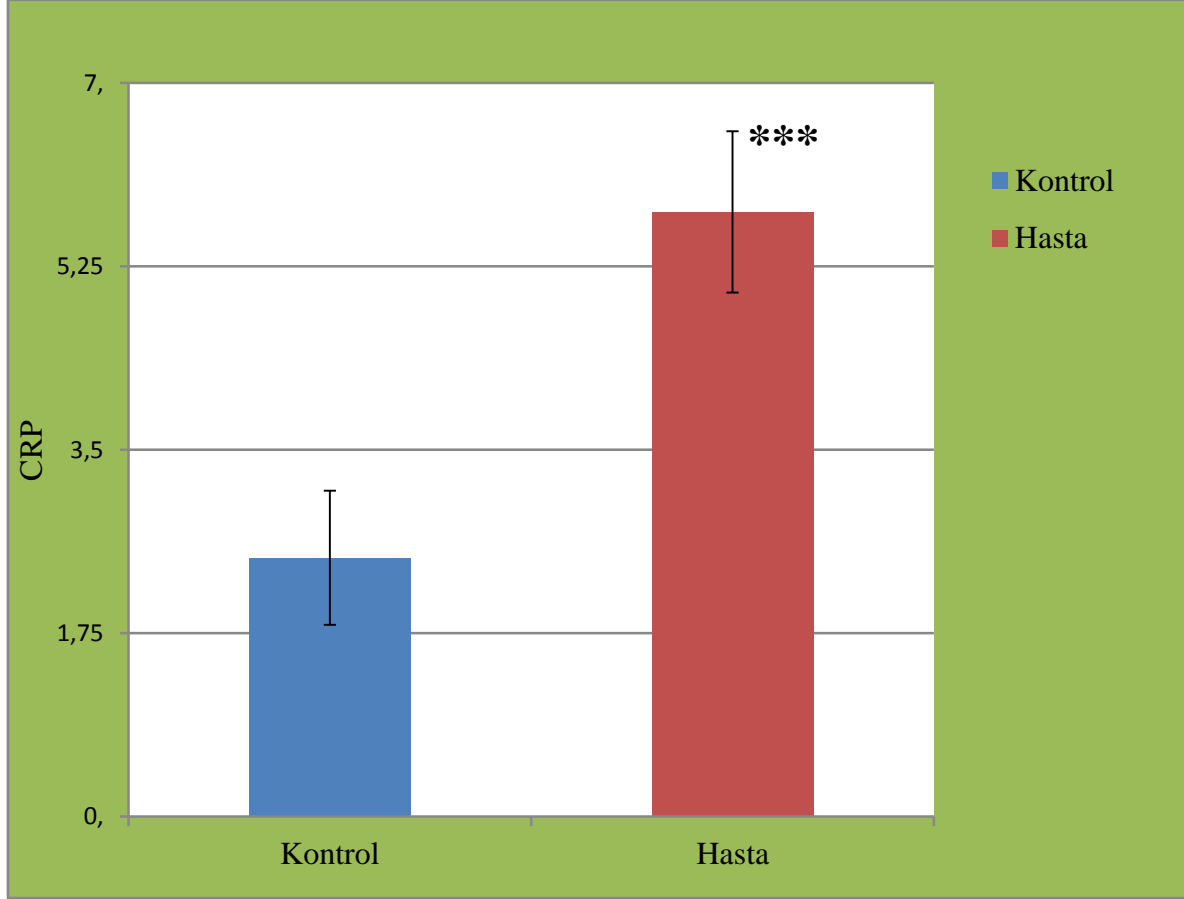
Şekil 13: Hasta ve kontrol gruplarında VKİ'lerinin karşılaştırılması ***p<0,001

Hasta ve kontrol gruplarında erkek bireylerin Δ CT değerleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.54$) (Tablo 7- Tablo 8). Hasta ve kontrol grubunda kadın cinsiyet örneklem sayısı eş olmadığından kadın cinsiyette Δ CT değerlerine göre istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Tablo 8: Erkeklerde ve VKİ 25-29,9 arasında olan kişilerde Δ CT değerlerinin karşılaştırılması, Ortalama \pm Standart Sapma ve Medyan değerleri

	Kontrol Ortalama \pm SD	Hasta Ortalama \pm SD	P
	Kontrol Medyan (Min–Max)	Hasta Medyan (Min–Max)	
ΔCT VKİ (25-29,9)	-3.6 \pm 0.68	-4.1 \pm 0.98	0.21
	-3.35 (-4.98 - -3.11)	-4.27 (-5.74 - -2.07)	
ΔCT Erkek	-3.38 \pm 0.66	-3.71 \pm 1.09	0.54
	-3.32 (-4.98 - -2.57)	-4.05 (-5.34 - -2.07)	

Hastalar C-reaktif protein (CRP) açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). Hasta grubunda CRP median değeri 4.75, kontrol grubunda ise 2.64 olarak saptandı (referans aralığı 0-5) (Tablo 6, Şekil 14).



Şekil 14: Hasta ve kontrol gruplarının CRP ortalamalarının karşılaştırılması
*** $p < 0,001$

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda silyagen, IL-17 ve OPN ile ilişkili olduğunu düşündüğümüz miR-129-3p'nin, ileri evre (Kellgren-Lawrence evre 3-4) OA'lı hastaların sinovyal sıvılarında, kıkırdak hasarı bulunmayan (Kellgren-Lawrence evre 0, Outerbridge evre 0) ön çapraz bağ rüptürlü kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını saptadık ($p<0.01$).

OA toplumda sık olarak görülen ve yol açtığı semptomlar sonucu hayat kalitesini bozan, kişilerin günlük aktivite düzeylerini azaltan ve bunlara bağlı olarak da toplumsal birçok sosyoekonomik yan etkileri olan günümüzün en sık rastlanan hastalıklarının başında gelmektedir. Hali hazırda birçok tedavi yöntemi ile kontrol altına alınmaya çalışılan bu hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortopedik cerrahi tedaviler uygulanır. Ancak implantların belli bir kullanım sürelerinin olmasına bağlı özellikle genç hastalar tekrarlayan cerrahi operasyonlar geçirmeye adaydır. Ayrıca yaşlı hasta grubunda da cerrahi operasyonlara bağlı mortalite ve morbidite oranları yüksektir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda OA için erken dönemde tanı ve tedavi modalitelerinin önemi artmaktadır. Deneysel olarak devam eden çalışmalar olmasına rağmen OA için henüz tam bir iyileşme vaadedilen tedavi yöntemi yoktur (222).

Osteoartrit tanısı ve tedavisinde çeşitli biyokimyasal belirteçler çalışılmaktadır. Biyokimyasal belirteçler hastalığın tanısı, takibi ve progresyonunun izlenmesinde oldukça önemlidir. Sitokinler ve enzimler gibi efektör moleküller ile ekstraselüler matriks bileşenlerinden kollajen ve proteoglikan yapım-yıkım ürünleri birer potansiyel biyokimyasal belirteç olarak kullanılabilir. Yapılan çalışmalar ile birçok biyokimyasal belirteç önerilmiş ancak henüz günlük pratikte kullanıma girmemiştir (223).

miRNA'ların periferik kanda RNAaz aktivitesinden korundukları için fizyolojik ve patolojik süreçte iyi birer biyobelirteç olarak kullanılacakları bildirilmiştir (241-243). OA kıkırdağında miRNA ekspresyonlarındaki değişimler yapılan araştırmalarda gösterilmiş olmasına rağmen OA hastalarında değişen sirküle miRNA seviyeleri hakkında kısıtlı bilgi bulunmaktadır (244).

Miyaki ve arkadaşları (2012) miRNA'ların kıkırdak, sinovyum ve subkondral kemikte çeşitli işlevlere sahip olabileceğini bildirmiştir. Bu miRNA'ların enjektabl formunun eklemlerdeki OA'nın lokal tedavisi için geliştirilebileceği düşünülmektedir ve böylece miRNA'ya dayalı tedavinin potansiyel zararlı yan etkiler olmadan tedavi sürecine başka bir yaklaşım sunabileceği öngörülmektedir (244).

İliopoulos ve arkadaşlarının çalışmasında (2008) OA'lı 33 hasta ve 10 sağlıklı kişinin kıkırdak dokusunda, 365 miRNA incelenmiş ve bu miRNA'ların 16'sının farklı eksprese olduğu bildirilmiştir. Bunlardan miRNA-483, miRNA-22, miRNA-377, miRNA-103, miRNA-16, miRNA-223, miRNA-30b, miRNA-23b ve miRNA-509'un ekspresyon düzeylerinin arttığı ve miRNA-29a, miRNA-140, miRNA-25, miRNA-337, miRNA-26a, miRNA-210, miRNA-373'ün ekspresyon düzeylerinin azaldığı vurgulanmış, bazılarının ise obezite ve inflamasyonla ilgili olduğu ileri sürülmüştür (224).

Jones ve arkadaşları (2009) OA ile normal kıkırdak ve kemik arasında 157 miRNA ekspresyonunu inceledikleri araştırmalarında kıkırdak dokuda normale göre 17 miRNA'nın, kemik dokuda ise normale göre 30 miRNA'nın daha fazla eksprese olduğunu belirtmişlerdir (24). Ayrıca bu çalışmada izole insan kondrositlerinde miRNA-9, miRNA-98 ve miRNA-146'nın aşırı ekspresyonunun TNF- α üretimini indükleyen IL-1 β 'yi azalttığını bildirmişlerdir (24).

Diaz-Prado ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (2012) primer kondrosit kültüründe 723 miRNA analiz edilmiş ve 7'sinin istatistiksel olarak önemli derecede farklı eksprese olduğu belirlenmiştir. Bunlardan miRNA-483 OA kondrositlerinde artarken, miRNA-149, miRNA-582, miRNA-1227, miRNA-634, miRNA-576 ve miRNA-641 normal kondrositlerde artmış olarak bulunmuştur. Bu miRNA'ların TGF- β , Wnt ve mTOR uyarı yolları aracılığıyla eklem kıkırdağında görev aldıkları öngörülmüştür (225).

Beyer ve arkadaşları (2014) kalça ve diz OA'sı olan 816 hastanın serum örneklerinde mikrodizin yöntemiyle miRNA taraması yapmışlar, sonuçta hasta grubunda let-7e, miRNA-454 ve miRNA-885-5p'nin diz ve kalça OA'sı ile ilgili biyobelirteç olabileceklerini önermişlerdir (226).

Çalışmalarda miRNA-140'ın hem uzun hem de yassı kemik gelişimi sırasında fare embriyolarının kıkırdak dokularında sentezlendiği kıkırdak spesifik bir miRNA olduğu bildirilmiştir (227).

Myaki ve arkadaşlarının çalışmasında (2009) normal insan kıkırdak dokusunda miRNA-140'ın ekspresyonu gösterilmiş ve OA'nın ileri evrelerinde ekspresyonun önemli derecede azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada normal insan kondrositleri IL-1 β ile muamele edilerek miRNA-140'ın ekspresyonunun baskılandığı ve miRNA-140'ın IL-1 β indüklü ADAMTS5 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (228). Aynı araştırma grubu in vivo fare çalışmasında (2010) miRNA-140'ın OA patogenezinde kritik bir rol oynadığını ve miRNA-140 baskılanmış farelerin, eklem kıkırdağı liflenmesi ve proteoglikan kaybı gibi yaşla ilişkili OA benzeri değişimler gösterdiklerini bildirmiştir. Aynı zamanda miRNA-140'ın in vivo

aşırı ekspresyonunun OA'daki dejenerasyonu inhibe ettiği de gösterilmiştir (229). Sonuçta bu iki çalışma ile miRNA-140'ın ADAMTS5 ekspresyonunu düzenleyerek OA patogenezinde direkt bir hedef olduğu ileri sürülmüştür (228, 229).

Tardif ve arkadaşları da (2009) miRNA-140 ekspresyonunun OA sürecinde azaldığını göstermiştir. Bu grup çalışmalarında OA kıkırdağında MMP-13 ve insülin benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein 5 (IGFBP-5) ekspresyonlarına odaklanmış, MMP-13 ve IGFBP-5'nin 3'-UTR dizilerinde fonksiyonel bağlanma alanlarını öngörmüşlerdir. miRNA-140 ve miRNA-27a'nın MMP-13 ve IGFBP-5'nin 3'-UTR'lerine bağlanma potansiyeline sahip olduğu ve bu miRNA'ların normal kondrositlerde eksprese olduğu, OA kondrositlerinde ise ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir (230).

Akhtar ve arkadaşları (2010) miRNA-27b'nin insan OA kondrositlerinde MMP-13 ekspresyonunu düzenlediğini bildirmiştir. Çalışmada miRNA ekspresyon profilini saptamak amacıyla, IL-1 β ile uyarılan ve uyarılmayan kondrositlerden elde edilen RNA'lar kullanılmış ve miRNA-27b'nin IL-1 β ile uyarılan kondrositlerde azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada MMP-13'ün ekspresyon artışının, miRNA-27b'nin azalışı ile korelasyonu ve miRNA-27b'nin MMP-13'ün direkt hedefi olduğu gösterilmiştir (231).

OA'da miRNA ekspresyonlarına yaşlanma gibi risk faktörleri aracılık edebilir. Birçok çalışmada, ya dolaşımdaki miRNA'lar ya da periferik kan hücrelerinde eksprese olan miRNA'lar farklı yaş gruplarındaki kişilerde incelenmiş ve OA ile ilgili bazı miRNA'larda dahil, spesifik miRNA'ların yaşla farklı ekspresyon gösterdiği sonucuna varılmıştır (232-234). Örneğin miRNA-146a ve miRNA-21 ekspresyonunun yaşa bağlı olarak arttığı bulunmuştur (234, 235). miRNA-21 ekspresyon seviyesindeki artışın inflamasyon belirteci C-reaktif protein ve TGF uyarısıyla uyumlu olduğu bildirilmiştir (234). miRNA-221 ekspresyonunun ise yaşla azaldığı ve bu azalmanın OA'yı içine alan uyarı yolağı fosfoinozitol 3 kinaz (PI3K)'nın artışına aracılık ettiği vurgulanmıştır (233). Sonuç olarak, yaşın önemli bir risk faktörü olduğu ve spesifik bir biyobelirtecin bulunmasının zor olduğu OA'nın teşhisinde bu miRNA'ların kullanılabileceği bildirilmiştir (235).

miRNA'ların ekspresyonlarının özel immün cevabı ve inflamatuvar uyarıyı da düzenledikleri belirlenmiştir. miRNA'lar hematopoezde önemli bir role sahiptir. Bu sürecin bozulması inflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli olabilmektedir. miRNA-146 ve miRNA-155; IL-1 ve TNF- α gibi pro-inflamatuvar uyarıcılar tarafından indüklenen miRNA'lardır (236). miRNA-146 a/b immün fonksiyonların düzenlenmesinde tanımlanan ilk miRNA'lardır (236). Normal olmayan miRNA-146 ekspresyonu OA, romatoid artrit ve psöriazis gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklarda gösterilmiştir (236-238). miRNA-146a ve

miRNA-155'in ekspresyon mekanizmalarını içeren çalışmalar proinflamatuvar transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin merkezi bir rolü olduğunu göstermektedir (237, 238). Bununla birlikte miRNA-155 seviyesinin düzenlenmesinde mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) uyarısının önemli bir role sahip olduğu ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK)'ın bu ekspresyonu düzenlediği düşünülmektedir (239).

Yamasaki ve arkadaşları (2009) histopatolojik evrelemeye göre düşük evre OA hastalarının kıkırdak dokusunda miRNA-146a'nın aşırı derecede eksprese olduğunu bu ekspresyonun IL-1 β uyarımı ile indüklendiğini bildirmişlerdir. Çalışmada 9'u kalça ve 6'sı diz olmak üzere 15 OA hastasından alınan kıkırdak dokusunda miRNA-146a ekspresyonu real-time PCR ve immunohistokimyasal olarak incelenmiştir. Normal insan dokusundan kültüre edilerek elde edilen kondrosit hücrelerinde ortamdaki IL-1 β varlığında miRNA-146a ve MMP-13'ün eksprese olduğu bulunmuştur (240).

Periferik mononükleer kan hücrelerinde (PMKH) miRNA'ların belirlenebilmesi OA'da biyobelirteç olarak kullanılabilmesi açısından önemlidir. Hastalığın ilerlemesi ile bağlantılı proteinaz ve proinflamatuvar sitokinleri üreten dolaşımdaki PMKH'ler OA hastalarının sinoviyumunda birikebilir. Okuhara ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında PMKH'lerde normal kontrole karşı OA grubunda miRNA-146a, miRNA-155, miRNA-181a ve miRNA-223'ün fazla ekspresyonunun OA patogeneziyle ilgili olabileceği bildirilmiştir (235).

OPN ve IL-17'nin, OA patogenezinde yer aldığı bilinmektedir (34, 219). Tsai ve arkadaşları (2017) çalışmalarında insan IL-17 geninin, miRNA-129-3p'nin hedef genlerinden biri olduğunu göstermiştir. Çalışmada osteoblastların osteopontin ile uyarımı sonucu miR-129-3p ekspresyonunun Syk-PI3K-Akt yolu aracılığıyla azaldığı ve buna bağlı olarak IL-17'nin arttığı bildirilmiştir (33). Dolayısıyla OPN ve IL-17'nin miR-129-3p ile ilişkili olduğu söylenebilir.

Liu ve arkadaşlarının (2015) 226 OA hastası ve 106 kişilik kontrol grubuyla gerçekleştirdikleri çalışmada IL-17 seviyesinin OA şiddeti ile negatif korele olduğu saptanmıştır (34).

Snelling ve arkadaşlarının (2017) 152 ileri evre OA'lı hastada IL-17 seviyesini araştırdıkları çalışmalarında, yalnızca 14 hastada IL-17 seviyesinde artış saptanırken, 138 hastada IL-17 tespit edilememiştir (245). Bu çalışmalardaki OA hastalarındaki azalmış IL-17 seviyeleri, miRNA-129-3p'nin ileri evre OA'da artışı ve sonuç olarak IL-17 genine bağlanıp IL-17 transkripsiyonunu azaltmasıyla ilişkilendirilebilir.

Dong X ve arkadaşları (2013) ileri evre OA'lı hastalarda osteopontin düzeylerinin azaldığını saptamışlardır (219).

Matsui ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında da osteopontin eksikliğinin hem yaşlanma ile ilişkili hem de instabilite kaynaklı OA'yı şiddetlendirdiği gösterilmiştir (214). OA'da osteopontinin seviyelerinin azalması, çalışmamızda saptadığımız artmış miRNA-129-3p düzeyleri ile ilişkili olabilir. Bu çalışmalar da dolaylı olarak tezimizi desteklemektedir.

Obezite dolayısıyla mekanik yüklenme artışının ve yaşlanmanın OA etiyolojisinde yer aldığı bilinmektedir (6). Çalışmamızda vücut kitle indeksi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (Hasta VKİ: 32.34 ± 6.58 , Kontrol VKİ: 25.86 ± 2.45 , p değeri <0.001). Hasta ve kontrol gruplarında vücut kitle indeksi 25-29,9 olanlar arasında Δ CT değerleri açısından istatistiksel analiz yapıldığında anlamlı fark gözlenmemiştir (p:0.21). OA'nın vücut kitle indeksi (VKİ) 30 ve üzerinde olan kişilerde görülme riskinin %60 oranında arttığı bilinmektedir (6). miRNA-129-3p ekspresyon artışının VKİ>30 olan OA hastalarında belirgin olduğu ve obezite ile ilişkili olabileceği söylenebilir. Hasta grubunda yaş kontrol grubuna oranla oldukça farklılık göstermektedir (Hasta yaş: 62.77 ± 5.42 , Kontrol yaş: 33.15 ± 8.91 , p <0.001). Çalışmamızda saptadığımız miRNA-129-3p'nin artışında yaşın yüksekliği de önemli rol oynuyor olabilir.

Hasta ve kontrol grubunda erkeklerde Δ CT değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanamamıştır (p: 0.21). Örnek sayımızın azlığı nedeniyle Δ CT'nin kadınlarda miRNA-129-3p artışında rolü olduğu şeklinde yorumlamak yerinde olmaz, bunu doğrulamak için geniş örneklemli çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

McGlashan ve arkadaşlarının (2010) çalışmasında primer silyaların OA progresyonu boyunca kondrositlerde bulunduğu ve dejeneratif kırıkdağın içindeki silyal hücrelerin toplam yüzdesinin OA şiddeti ile arttığı gösterilmiştir (30, 31).

Cao ve arkadaşları (2012) miRNA-129-3p'nin ekspresyonundaki artışın CP110 ve aktin dinamiklerini düzenleyerek silyal hücreleri arttırdığını öne sürmüştür (32). OA'da dejeneratif eklem kondrositlerinde primer silya sayısı ve uzunluğu artmıştır (31). Silyagenezde CP110 inhibisyonu üzerinden artış yapan tanımlı mikro RNA miR-129-3p'dir (32). Dolayısıyla çalışmamızda ileri evre OA'lı hasta sinovyal sıvılarında bulduğumuz yüksek miRNA-129-3p ekspresyonları silyagenezle de ilişkili olabilir.

İleri evre OA'lı hastaların sinovyal sıvılarında kırıkdağ hasarı bulunmayan kontrol grubuna kıyasla daha yüksek miRNA-129-3p ekspresyonu bulunması, bu molekülün kırıkdağ hasarı ile ilişkili olabileceğini gösterir.

Sowers ve arkadaşlarının (2002) 1025 kadın üzerinde yürüttükleri çalışmada yüksek serum CRP düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde diz OA prevalansı ve şiddetini arttırdığı ayrıca bilateral diz OA'sı olan kadınlarda tek taraflı OA olanlara göre daha yüksek CRP düzeyleri görüldüğü saptanmıştır (246). Bu ve benzeri çalışmalarda erken diz osteoartrinde CRP düzeylerinin orta ölçüde arttığı ve daha yüksek düzeylerin zaman içinde ilerlemede belirleyici olduğu bildirilmiştir. CRP'deki bu artış eklemdeki doku hasarını yansıtır olabilir (247).

Çalışmamızda CRP değerleri karşılaştırıldığında OA'da CRP'nin (2.47 ± 1.46), kontrol grubuna (5.78 ± 3.47) göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p < 0.001$). OA hastalarındaki miRNA-129-3p ekspresyonundaki artış CRP düzeylerindeki artışla da ilişkili olabilir.

6. SONUÇ

Osteoartrit kronik inflamasyonla seyreden ve tüm dünyada sıklığı giderek artan dejeneratif bir eklem hastalığıdır. Semptomatik ve cerrahi tedaviler uygulanmaktadır. Semptomatik tedavi hastalığın progresyonunu etkilemezken cerrahi tedavinin bir takım dezavantajları bulunmaktadır. Hastalığın moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Son dönemdeki çalışmalar miRNA'ların hastalığın patogenezinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir. OA hastalarında miRNA ekspresyon farklılıkları yapılan araştırmalarda gösterilmiş olmasına rağmen değişen sirküle miRNA seviyeleri hakkında kısıtlı bilgi bulunmaktadır. miRNA'ların inflamasyon ve OA ilerlemesini azaltabileceği ya da kıkırdakta anabolik işleve sahip olabileceği tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların enjektabl formunun eklemlerdeki OA'nın lokal tedavisi için geliştirilebileceği düşünülmektedir. Böylece miRNA'ya dayalı tedavinin potansiyel zararlı yan etkiler olmadan tedavi sürecine başka bir yaklaşım sağlayabileceği öngörülmektedir. Araştırmamızda ileri evre OA hastalarında miR-129-3p ekspresyonunun kontrol grubuna göre artmış bulunması, miR-129-3p'nin OA patogenezinde yer alabileceğini göstermektedir. Ancak miR-129-3p'nin osteoartritte bir biyobelirteç olarak kullanılabilmesi veya tedavi hedefi olabilmesi için daha geniş prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Glyn-Jones S, Palmer AJR, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H, et al. Osteoarthritis. *Lancet*. 2015; 386 (9991): 376-387.
2. Guccione AA, Felson DT, Anderson JJ, Anthony JM, Zhang Y, Wilson PW, et al. The effects of specific medical conditions on the functional limitations of elders in the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1994; 84(3): 351-8.
3. Murphy L, Schwartz TA, Helmick CG, Renner JB, Tudor G, Koch G, et al. Lifetime risk of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2008; 59(9): 1207-13.
4. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwell Jr CW, Lotz MK. Impact of mechanical trauma on matrix and cells. *Clin Orthop Relat Res*. 2001; 391: 90-9.
5. Grodzinsky AJ, Levenston ME, Jin M, Frank EH. Cartilage tissue remodeling in response to mechanical forces. *Annu Rev Biomed Eng*. 2000; 2: 691-713.
6. O'Connor CJ, Leddy HA, Benefield HC, Liedtke WB, Guilak F. TRPV4-mediated mechanotransduction regulates the metabolic response of chondrocytes to dynamic loading. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111: 1316-21.
7. Tammi M, Saamanen AM, Jauhiainen A, Malminen O, Kiviranta I, Helminen H. Proteoglycan alterations in rabbit knee articular cartilage following physical exercise and immobilization. *Connect Tissue Res*. 1983; 11: 45-55.
8. Brandt KD, Braunstein EM, Visco DM, O'Connor B, Heck D, Albrecht M. Anterior (cranial) cruciate ligament transection in the dog: a bona fide model of osteoarthritis, not merely of cartilage injury and repair. *J Rheumatol*. 1991; 18: 436-46.
9. Garnero P, Landewe R, Boers M, Verhoeven A, Van Der Linden S, Christgau S, et al. Association of baseline levels of markers of bone and cartilage degradation with long-term progression of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis: the COBRA study. *Arthritis Rheum*. 2002; 46: 2847-56.
10. Musumeci G, Loreto C, Carnazza ML, Martinez G. Characterization of apoptosis in articular cartilage derived from the knee joints of patients with osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011; 19: 307-13.

11. Millward-Sadler SJ, Wright MO, Davies LW, Nuki G, Salter DM. Mechanotransduction via integrins and interleukin-4 results in altered aggrecan and matrix metalloproteinase 3 gene expression in normal, but not osteoarthritic, human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 2091- 9.
12. Aurich M, Squires GR, Reiner A, Mollenhauer JA, Kuettner KE, Poole AR, et al. Differential matrix degradation and turnover in early cartilage lesions of human knee and ankle joints. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(1): 112-9.
13. Goldring MB. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43(9): 1916-26.
14. Bondeson J, Wainwright SD, Lauder S, Amos N, Hughes CE. The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006; 8(6): 187.
15. Lonner JH. A 57-year old man with osteoarthritis of the knee. *JAMA.* 2003; 289(8): 1016-25.
16. Weng HH and Fitzgerald J. Current issues in joint replacement surgery. *Curr Opin Rheumatol.* 2006; 18(2): 163-9.
17. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993; 75(5): 843-54.
18. Baehrecke EH. miRNAs: micro managers of programmed cell death. *Current Biology.* 2003; 12: 473-5.
19. Carrington JC, Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development. *Science.* 2003; 5631: 336-8.
20. Ke XS, Liu CM, Liu DP, Liang CC. MicroRNAs: key participants in gene regulatory networks. *Curr Opin Chem Biol.* 2003; 4:516-23.
21. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet.* 2004; 5(7): 522-31.

22. Nugent M. MicroRNAs: exploring new horizons in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016; 24(4): 573-80.
23. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116(2): 281- 97.
24. Jones SW, Watkins G, Le Good N, Roberts S, Murphy C, Brockbank, S, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF- α and MMP13. *Osteoarthritis and cartilage*. 2009; 17: 464-472.
25. Cui S, Zhang K, Li C, Chen J, Pan Y, Feng B, et al. Methylation-associated silencing of microRNA-129-3p promotes epithelial-mesenchymal transition, invasion and metastasis of hepatocellular cancer by targeting Aurora-A. *Oncotarget*. 2016; 7(47): 78009-78028.
26. Chen X, Ruan A, Wang X, Han W, Wang R, Lou N, et al. miR-129-3p, as a diagnostic and prognostic biomarker for renal cell carcinoma, attenuates cell migration and invasion via downregulating multiple metastasis-related genes. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014; 140(8): 1295-304.
27. Ouyang Q, Chen G, Zhou J, Li L, Dong Z, Yang R, et al. Neurotensin signaling stimulates glioblastoma cell proliferation by upregulating c-Myc and inhibiting miR-29b-1 and miR-129-3p. *Neuro Oncol*. 2016; 18(2): 216-26.
28. Bijnsdorp IV, Hodzic J, Lagerweij T, Westerman B, Krijgsman O, Broeke J, et al. miR-129-3p controls centrosome number in metastatic prostate cancer cells by repressing CP110. *Oncotarget*. 2016; 7(13): 16676-87.
29. Zhang Y, Wang Y, Wei Y, Li M, Yu S, Ye M, et al. miR-129-3p promotes docetaxel resistance of breast cancer cells via CP110 inhibition. *Sci Rep*. 2015; 5: 15424.
30. Wann AK, Zuo N, Haycraft CJ, Jensen CG, Poole CA, McGlashan SR, et al. Primary cilia mediate mechanotransduction through control of ATP-induced Ca⁺² signaling in compressed chondrocytes. *FASEB J*. 2012; 26: 1663-71.

31. McGlashan SR, Knight MM, Chowdhury TT, Joshi P, Jensen CG, Kennedy S, et al. Mechanical loading modulates chondrocyte primary cilia incidence and length. *Cell Biol Int*. 2010; 34: 441-6.
32. Cao J, Shen Y, Zhu L, Xu Y, Zhou Y, Wu Z, et al. miR-129-3p controls cilia assembly by regulating CP110 and actin dynamics. *Nat Cell Biol*. 2012; 14(7): 697-706.
33. Tsai CH, Liu SC, Wang YH, Su CM, Huang CC, Hsu CJ, Tang CH. Osteopontin inhibition of miR-129-3p enhances IL-17 expression and monocyte migration in rheumatoid arthritis. *Biochim Biophys Acta*. 2017; 1861(2): 15-22.
34. Liu Y, Peng H, Meng Z, Wei M. Correlation of IL-17 Level in Synovia and Severity of Knee Osteoarthritis. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 1732-6.
35. Richter F, Natura G, Ebbinghaus M, von Banchet GS, Hensellek S, Konig C, et al. Interleukin-17 sensitizes joint nociceptors to mechanical stimuli and contributes to arthritic pain through neuronal interleukin-17 receptors in rodents. *Arthritis and rheumatism*. 2012; 64(12): 4125-34.
36. Goldblatt JP and Richmond JC, Anatomy and biomechanics of the knee. *Operative Techniques in Sports Medicine*. 2003; 11(3): 172-186.
37. Fu FH, Harner CD, Johnson DL, Miller MD, Woo SL. Biomechanics of knee ligaments: basic concepts and clinical application. *Instr Course Lect*. 1994; 43: 137-48.
38. Kweon C, Lederman ES, Chhabra A. Anatomy and Biomechanics of the Cruciate Ligaments and Their Surgical Implications. Initial Assessment in the Acute and Chronic Multiple-Ligament-Injured Knee. 2013; 17-27.
39. D'Antoni AV. Clinically Oriented Anatomy. In: Keith LM, Arthur FD, Anne M, Agur R, editors. Lippincott Williams & Wilkins. Paperback. 2014; 27(2): 601.
40. Flandry F and Hommel G. Normal anatomy and biomechanics of the knee. *Sports Med Arthrosc*. 2011; 19(2): 82-92.
41. Hsieh HH and Walker PS. Stabilizing mechanisms of the loaded and unloaded knee joint. *J Bone Joint Surg Am*. 1976; 58(1): 87-93.

42. Chubinskaya S, Malfait AM, Wimmer MA. Form and Function of Articular Cartilage. In: O'Keefe RJ, American Academy of Orthopaedic S, editors. Orthopaedic Basic Science: Foundations of Clinical Practice. 4th Edition ed. Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons. 2013; 183-97.
43. Goldring MB. Cartilage and Chondrocytes. In: Firestein GS, Budo RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR, editors. Kelley's Textbook of Rheumatology. Electronic version: Saunders. 2013; 3360-100.
44. Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. Instr Course Lect. 2005; 54: 465-8.
45. Lane LB, Villacin A, Bullough PG. The vascularity and remodelling of subchondrial bone and calcified cartilage in adult human femoral and humeral heads. An age- and stress-related phenomenon. Journal of Bone & Joint Surgery. 1977; 59-(3): 272-8.
46. Hunziker EB. The structure of articular cartilage. In: Archer C, Ralphs J, editors. Regenerative Medicine and Biomaterials for the Repair of Connective Tissues: Woodhead Publishing. 2010; 83-105.
47. Bader D, Lee D. Chapter 4 Structure Properties of Soft Tissues Articular Cartilage. In: Manuel E, editor. Pergamon. 2000; 75-103.
48. Maroudas A, Palla G, Gilav E. Racemization of Aspartic Acid in Human Articular Cartilage. Connect Tissue Res. 1992; 28(3):161-9.
49. Aydelotte M, Schumacher B, Kuettner K. Heterogeneity of articular chondrocytes. In: Kuettner K, Schleyerbach R, Peyron J, Hascall V, editors. Articular Cartilage and Osteoarthritis. New York. 1991; 237-49.
50. Little CB, Ghosh P. Variation in proteoglycan metabolism by articular chondrocytes in different joint regions is determined by post-natal mechanical loading. Osteoarthritis and Cartilage. 1997; 5(1): 49-62.
51. Aydelotte MB, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. I. Morphology and cartilage matrix production. Connect Tissue Res. 1988; 18(3): 205.

52. Aydelotte MB, Greenhill RR, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism. *Connect Tissue Res.* 1988; 18 (3): 223.
53. Otero M, Goldring MB. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. Chondrocytes. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9(5): 220.
54. Langelier E, Suetterlin R, Hoemann CD, Aebi U, Buschmann MD. The Chondrocyte Cytoskeleton in Mature Articular Cartilage: Structure and Distribution of Actin, Tubulin, and Vimentin Filaments. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2000; 48(10): 1307-20.
55. Silver IA. Measurement of pH and ionic composition of pericellular sites. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1975; 271(912): 261-72.
56. Bywaters EGL and MacKinnon M. The metabolism of joint tissues. *J Pathol.* 1937; 44: 247-268.
57. Rosenthal O, Bowie MA, Wagoner G. Studies in the metabolism of articular cartilage. I. Respiration and glycolysis of cartilage in relation to its age. *J Cell Comp Physiol.* 1941; 17: 221-233.
58. Heywood HK, Bader DL, Lee DA. Rate of oxygen consumption by isolated articular chondrocytes is sensitive to medium glucose concentration. *J Cell Physiol.* 2006; 206(2): 402-10.
59. Sengers BG, Heywood HK, Lee DA, Oomens CW, Bader DL. Nutrient utilization by bovine articular chondrocytes: a combined experimental and theoretical approach. *J Biomech Eng.* 2005; 127(5): 758-66.
60. Brighton CT, Kitajima T, Hunt RM. Zonal analysis of cytoplasmic components of articular cartilage chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism.* 1984; 27: 1290-1299.
61. Champagne AM, Benel L, Ronot X, Mignotte F, Adolphe M, Mounolou JC. Rhodamine 123 uptake and mitochondrial DNA content in rabbit articular chondrocytes evolve differently upon transfer from cartilage to culture conditions. *Exp Cell Res.* 1987; 171(2): 404-10.

62. Eggli PS, Hunziker EB, Schenk RK. Quantitation of structural features characterizing weight- and less-weight-bearing regions in articular cartilage: A stereological analysis of medial femoral condyles in young adult rabbits. *Anat. Rec.* 1988; 222: 217-227.
63. Lee RB, Urban JP. Evidence for a negative Pasteur effect in articular cartilage. *Biochem J.* 1997; 321 (1): 95-102.
64. Heywood HK, Lee DA. Monolayer expansion induces an oxidative metabolism and ROS in chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 373(2): 224-9.
65. Zhou S, Cui Z, Urban JP. Factors influencing the oxygen concentration gradient from the synovial surface of articular cartilage to the cartilage-bone interface: a modeling study. *Arthritis Rheum.* 2004; 50(12): 3915-24.
66. Lee RB, Wilkins RJ, Razaq S, Urban JP. The effect of mechanical stress on cartilage energy metabolism. *Biorheology.* 2002; 39(1-2): 133-43.
67. Ruiz-Romero C, López-Armada MJ, Blanco FJ. Proteomic characterization of human normal articular chondrocytes: A novel tool for the study of osteoarthritis and other rheumatic diseases. *Proteomics.* 2005; 5(12): 3048-59.
68. Flannery CR, Hiscock DRR, Caterson B. Synthesis and degradation of hyaluronan in articular cartilage. In: Jfkopa W, editor. *Waadhead.* 2002; 291-6.
69. Ray S, Meachim G. Chondrocyte ultrastructure in adult human articular cartilage. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 1968; 27(6): 544-58.
70. Bush PG, Hall AC. The volume and morphology of chondrocytes within non-degenerate and degenerate human articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2003; 11(4): 242-51.
71. Poole C. Confocal analysis of primary cilia structure and colocalization with the golgi apparatus in chondrocytes and aortic smooth muscle cells. *Cell Biology International.* 1997; 21(8): 483-94.
72. Coimbra IB, Jimenez SA, Hawkins DF, Piera-Velazquez S, Stokes DG. Hypoxia inducible factor-1 alpha expression in human normal and osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2004; 12(4): 336-45.

73. Wilkins RJ, Browning JA, Ellory JC. Surviving in a Matrix: Membrane Transport in Articular Chondrocytes. *Journal of Membrane Biology*. 2000; 177(2): 95-108.
74. Knudson CB. Hyaluronan receptor-directed assembly of chondrocyte pericellular matrix. *J Cell Biol*. 1993; 120(3): 825-34.
75. Mobasher A. Integrins and stretch activated ion channels; putative components of functional cell surface mechanoreceptors in articular chondrocytes. *Cell Biology International*. 2002; 26(1): 1-18.
76. Lucchinetti, E, Bhargava MM, Torzilli PA. The effect of mechanical load on integrin subunits $\alpha 5$ and $\beta 1$ in chondrocytes from mature and immature cartilage explants. *Cell and Tissue Research*. 2003; 385-391.
77. Millward-Sadler SJ, Salter DM. Integrin-Dependent Signal Cascades in Chondrocyte Mechanotransduction. *Annals of Biomedical Engineering*. 2004; 32(3): 435-46.
78. Kurtis MS, Tu BP, Gaya OA, Mollenhauer J, Knudson W, Loeser RF, et al. Mechanisms of chondrocyte adhesion to cartilage: role of B1-integrins, CD44, and annexin V. *Journal of Orthopaedic Research*. 2001; 19(6): 1122-30.
79. Loeser RF. Integrin-mediated attachment of articular chondrocytes to extracellular matrix proteins. *Arthritis Rheum*. 1993; 36(8): 1103-10.
80. Knudson CB, Knudson W. Hyaluronan and CD44: modulators of chondrocyte metabolism. *Clin Orthop Relat Res*. 2004; (427): 152-62.
81. von der Mark K, Mollenhauer J. Annexin V interactions with collagen. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1997; 53(6): 53945.
82. Quinn TM, Hunziker EB, Häuselmann HJ. Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2005; 13(8): 672-8.
83. Stockwell RA. Inter-relationship of articular cartilage thickness and cellularity. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1972; 31(5): 424.

84. Wong M, Wuethrich P, Buschmann MD, Eggli P, Hunziker E. Chondrocyte biosynthesis correlates with local tissue strain in statically compressed adult articular cartilage. *Journal of Orthopaedic Research*. 1997; 15(2): 189-96.
85. Cole AA, Kuettner KE. Molecular basis for differences between human joints. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*. 2002; 59(1): 1926.
86. Eger W, Schumacher BL, Mollenhauer J, Kuettner KE, Cole AA. Human knee and ankle cartilage explants: Catabolic differences. *Journal of Orthopaedic Research*. 2002; 20(3): 526-34.
87. Lane LB, Bullough PG. Age-related changes in the thickness of the calcified zone and the number of tidemarks in adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br*. 1980; 62(3): 372-5.
88. Brem H, Folkman J. Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage. *J Exp Med*. 1975; 141(2): 427-39.
89. Kuettner KE, Pauli BU. Inhibition of neovascularization by a cartilage factor. *Ciba Found Symp*. 1983; 100:163-73.
90. Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. *Science*. 1990; 248(4961): 1408-10.
91. Moses MA, Wiederschain D, Wu I, Fernandez CA, Ghazizadeh V, Lane WS, et al. Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999; 96(6): 2645-50.
92. Pufe T, Petersen WI, Miosge N, Goldring MB, Mentlein R, Varoga DJ, et al. Endostatin/collagen XVII-an inhibitor of angiogenesis-is expressed in cartilage and fibrocartilage. *Matrix Biology*. 2004; 23(5): 267-76.
93. Henry SE, Deasy BM, Chu CR. Articular Cartilage. In: Scott WN, editor. *Insall & Scott Surgery of the Knee*. Fifth Edition ed. Electronic Version: Churchill Livingstone. 2012; 146-52.
94. Goldring SR, Goldring MB. Biology of the Normal Joint. In: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR, editors. *Kelley's Text book of Rheumatology*. Saunders. 2013; 1-19.

95. Strangeways TSP. Observations on the nutrition of articular cartilage. *British Medical Journal*. 1920; 1 (3098): 661-3.
96. Maroudas A, Bullough P, Swanson SA, Freeman MA. The permeability of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br*. 1968; 50(1): 166-77.
97. Linn FC, Sokoloff L. Movement and composition of interstitial fluid of cartilage. *Arthritidis Rheum*. 1965; 8: 481-94.
98. Lewis PR, McCutchen CW. Experimental evidence for weeping lubrication in mammalian joints. *Nature*. 1959; 184:1285.
99. Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework *Eur Cell Mater*. 2006; 12: 57-63.
100. Dudhia J. Aggrecan, aging and assembly in articular cartilage. *Cell Mol Life Sci*. 2005; 62(19-20): 2241-56.
101. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery S. Composition and Structure of Articular Cartilage. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2001; 391: 26-33.
102. Poole AR. An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein, and collagen in the matrix of articular cartilage. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 93(3): 921-37.
103. Guilak F, Alexopoulos LG, Upton ML, Youn I, Choi JB, Cao L, Setton LA, Haider MA. The pericellular matrix as a transducer of biomechanical and biochemical signals in articular cartilage. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1068: 498-512.
104. Wu JI, Weis MA, Kim LS, Eyre DR. Type III collagen, a fibril network modifier in articular cartilage. *J Biol Chem*. 2010; 285(24):18537-44.
105. Mark Kvd. Chapter 1 - Structure, Biosynthesis and Gene Regulation of Collagens in Cartilage and Bone. In: Bilezikian MJSPRP, editor *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism (Second Edition)*. Burlington. 2006; 3-40.

106. Bruckner P. Chapter 24-Supramolecular Structure of Cartilage Matrix. In: Bilezikian MJSPRP, editor. Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism (Second Edition). Burlington. 2006; 407-20.
107. Sandell LJ, Heinegard D, Hering TM. Cell biology, biochemistry, and molecular biology of articular cartilage in osteoarthritis. In: Moskowitz RVW, Altman RD, Hochberg MC, editors. Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management. Philadelphia. 2007; 73-106.
108. Stanescu V, Stanescu R, Maroteaux P. Differences in distribution of type I and type II collagens in the superficial and intermediary zones of articular cartilage. CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D. 1976; 283(3): 279-82.
109. SundarRaj N, Fite D, Ledbetter S, Chakravarti S, Hassell JR. Perlecan is a component of cartilage matrix and promotes chondrocyte attachment. J Cell Sci. 1995; 108 (7): 2663-72.
110. Knudson CB, Knudson W. Cartilage proteoglycans. Seminars in Cell & Developmental Biology. 2001; 12(2): 69-78.
111. Miosge N, Flachsbart K, Goetz W, Schultz W, Kresse H, Herken R. Light and electron microscopical immunohistochemical localization of the small proteoglycan core proteins decorin and biglycan in human knee joint cartilage. Histochem J. 1994; 26(12): 939-45.
112. Wiberg C, Hedbom E, Khairullina A, Lamandé SR, Oldberg Å, Timpl R, et al. Biglycan and Decorin Bind Close to the N-terminal Region of the Collagen VI Triple Helix. Journal of Biological Chemistry. 2001; 276(22): 18947-52.
113. Svensson L, Oldberg A, Heinegård D. Collagen binding proteins. Osteoarthritis and Cartilage. 2001; 9: 23-8.
114. Hardingham T. Chapter 5 - Proteoglycans and Glycosaminoglycans. In: Bilezikian MJSPRP, editor. Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism (Second Edition). Burlington. 2006; 85-98.

115. Heinegard D, Lorenzo P, Saxne T. Chapter 4-Noncollagenous Proteins, Glycoproteins and Related Proteins. In: Bilezikian MJSPRP, editor. Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism (Second Edition). Burlington. 2006; 71-84.
116. DiCesare PE, Morgelin M, Carlson CS, Pasumarti S, Paulsson M. Cartilage oligomeric matrix protein: isolation and characterization from human articular cartilage. *J Orthop Res.* 1995; 13(3): 422-8.
117. Kanbe K, Yang X, Wei L, Sun C, Chen Q. Pericellular matrilins regulate activation of chondrocytes by cyclic load-induced matrix deformation. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(2): 318-28.
118. Pullig O, Weselon G, Klatt AR, Wagener R, Swoboda B. Matrilin-3 in human articular cartilage: increased expression in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10(4): 253-63.
119. Lorenzo P, Bayliss MIT, Heinegard D. A Novel Cartilage Protein (CILP) Present in the Mid-zone of Human Articular Cartilage Increases with Age. *Journal of Biological Chemistry.* 1998; 273(36): 23463-8.
120. Hirose J, Ryan LM, Masuda I. Up-regulated expression of cartilage intermediate layer protein and ANK in articular hyaline cartilage from patients with calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *Arthritis & Rheumatism.* 2002; 46(12): 3218-29.
121. Lorenzo P, Aspberg A, Onnerfjord P, Bayliss MI, Neame PJ, Heinegard D. Identification and Characterization of Asporin. A novel member of the leucine-rich repeat protein family closely related to decorin and biglycan. *Journal of Biological Chemistry.* 2001; 276(15): 12201-11.
122. Henry SP, Takanosu M, Boyd TC, Mayne PM, Eberspaecher H, Zhou W, de Crombrughe B, Hook M, Mayne R. Expression Pattern and Gene Characterization of Asporin. A newly discovered member of the leucine-rich repeat protein family. *Journal of Biological Chemistry.* 2001; 276(15): 12212-21.
123. Kizawa H, Kou I, Iida A, Sudo A, Miyamoto Y, Fukuda A, Mabuchi A, Kotani A, Kawakami A, Yamamoto S, Uchida A, Nakamura K, Notoya K, Nakamura Y, Ikegawa S. An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogene

- sis and increases susceptibility to osteoarthritis. *Nature Genetics*. 2005; 37(2): 138-44.
124. Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, Bank RA, Shaw JN, Lyons TJ, Bijlsma JWJ, Lafeber FPJG, Baynes JW, TeKoppele JM. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275(50): 39027-31.
125. Maroudas A, Bayliss MT, Uchitel Kaushansky N, Schneiderman R, Gilav E. Agrecan Turnover in Human Articular Cartilage: Use of Aspartic Acid Racemization as a Marker of Molecular Age. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1998; 350(1): 61-71.
126. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*. 2003; 33(1): 1-13.
127. Henrotin Y, Pesesse L, Sanchez C. Subchondral bone and osteoarthritis: biological and cellular aspects. *Osteoporos Int*. 2012; 8:5847-51.
128. Imhof H, Sulzbacher I, Grampp S, Czerny C, Youssefzadeh S, Kainberger F. Subchondral bone and cartilage disease, A rediscovered functional unit. *Invest Radiol*. 2000; 35(10): 581-8.
129. Wu JP, Kirk TB, Zheng MH. Study of the collagen structure in the superficial zone and physiological state of articular cartilage using a 3D confocal imaging technique. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2008; 3:29.
130. Mosher TJ. Chapter 2 Functional anatomy and structure of the "osteocondral unit". In: Gold MABJME, editor. *Arthritis in Color*. Philadelphia. 2009; 23-32.
131. Brama PA, Tekoppele JM, Bank RA, Barneveld A, van Weeren PR. Biochemical development of subchondral bone from birth until age eleven months and the influence of physical activity. *Equine Vet J*. 2002; 34(2): 143.9.
132. Duncan H, Jundt J, Ridle JM, Pitchford W, Christopherson T. The tibial subchondral plate. A scanning electron microscopic study. *J Bone Joint Surg Am*. 1987; 69(8): 1212-20.

133. Holmdahl DE, Ingelmark BE. The contact between the articular cartilage and the medullary cavities of the bone. *Acta Orthop Scand*. 1950; 20(2): 156-65.
134. Junqueira LC, Carneiro J, Temel Histoloji. 2003;141-156.
135. Altman, R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum*. 1986; 29(8): 1039-49.
136. Woolf, A.D. and Pfleger B. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bull World Health Organ*. 2003; 81 (9): 646-56.
137. Hiligsmann M, Cooper C, Arden N, Boers M, Branco JC, Luisa Brandi M, et al. Health economics in the field of osteoarthritis: an expert's consensus paper from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Semin Arthritis Rheum*. 2013; 43(3): 303-13.
138. Felson, D.T., Clinical practice. Osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med*. 2006; 354(8): 841-8.
139. Centers for Disease, Control and Prevention, Projected state-specific increases in self-reported doctor-diagnosed arthritis and arthritis attributable activity limitations-United States, 2005-2030. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2007; 56(17): 423-5.
140. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*. 2008; 58(1): 26-35.
141. Oliveria SA, Felson DT, Reed JI, Cirillo PA, Walker AM, et al. Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis Rheum*. 1995; 38(8): 1134-41.
142. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci*. 2006; 11: 529-43.
143. Intema F, Hazewinkel HA, Gouwens D, Bijlsma JW, Weinans H, Lafeber FP, et al. In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage

- damage: results from a canine ACLT-meniscectomy model. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010; 18(5): 691-8.
144. Intema F, Sniekers YH, Weinans H, Vianen ME, Yocum SA, Zuurmond AM, et al. Similarities and discrepancies in subchondral bone structure in two differently induced canine models of osteoarthritis. *J Bone Miner Res*. 2010; 25(7): 1650-7.
145. Yano F, Hojo H, Ohba S, Fukai A, Hosaka Y, Ikeda T, et al. A novel disease modifying osteoarthritis drug candidate targeting Runx1. *Ann Rheum Dis*. 2013; 72: 748-53.
146. Del Carlo M Jr, Loeser RF. Cell death in osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2008; 10: 37-42.
147. Carames B, Taniguchi N, Otsuki S, Blanco FJ, Lotz M. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2010; 62: 791-801.
148. Danial NN. BCL-2 Family Proteins: Critical Check Points of Apoptotic Cell Death. *Clin Cancer Res*. 2007; 13:7254-63.
149. Fukui N, Sandell U. Anabolic Mediators of Cartilage Healing. In: Bronner F, Farach Carson MC, editors. *Bone and Osteoarthritis*. Vol 4 of the series *Topics in Bone Biology*. 2007; 97-108.
150. Kozaci LD, Oktay G, Hollander AP. Effects of Interleukin 1 (IL1-Induced Matrix Breakdown on Chondrocyte Morphology in Bovine Nasal Cartilage Explants. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2005; 29: 951-7.
151. Hunziker EB. Growth-factor-induced healing of partial thickness defects in adult articular cartilage *Osteoarthritis and Cartilage*. 2001; 9:22-32.
152. 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: 61-9.
153. Meyer U and Wiesmann HP. *Bone and Cartilage Engineering Cartilage Structure and Function*. Springer. 2006; 25-9.

154. Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. *Eur Cell Mater.* 2005; 14(9): 23-32.
155. Mariani E, Pulsateli L, Facchini A. Signaling pathways in cartilage repair. *Int J MolSci.* 2014; 15(5): 8667-98.
156. Ito Y, Fitzsimmons IS, Sanyal A, Melio MA, Mukherjee N, O'Driscoll SW. Localization of chondrocyte precursors in periosteum. *Osteoarthritis Cartilage.* 2001; 9(3): 215-23.
157. Burton-Wurster N, Vernier-Singer M, Farquhar T, Lust G. Effects of compressive loading and unloading on the synthesis of total protein, proteoglycan, and fibronectin by canine cartilage explants. *J Orthop Res.* 1993; 11: 717-26.
158. Goldring MB, Marcu KB. Cartilage Homeostasis in Health and Rheumatic Diseases. *Arthritis Res Ther.* 2009; 11(3): 224-40.
159. Leijten JC, Emons J, Sticht C, Van Gool S, Decker E, Uitterlinden A, et al. Gremlin 1, frizzled-related protein, and Dkk-1 are key regulators of human articular cartilage homeostasis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64:3302-12.
160. Poole AR. An introduction to the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci.* 1999; 4: 662-70.
161. Murphy G, Lee MH. What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage? *AnnRheumDis.* 2005; 64(4): 44-7.
162. Cawston TE, Wilson A. Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006; 20: 983-1002.
163. Kozaci LD, Buttle DJ, Hollander AP Degradation of type II collagen but not proteoglycan, correlates with matrix metalloproteinase activity in cartilage explant cultures. *Arthritis Rheum.* 1997; 40(1): 164-74.
164. Homandberg GA, Meyers R, Willams JM. Intraarticular injection of fibronectin fragments causes severe depletion of cartilage proteoglycans in vivo. *J Rheumatol.* 1993; 20: 1378-82.

165. Weinans H, Siebelt M, Agricola R, Botter SM, Pijpers TM, Waarsing JH. Pathophysiology of peri-articular bone changes in osteoarthritis. *Bone*. 2012; 51(2): 190-6.
166. Taljanovic MS, Graham AR, Benjamin JB, Gmitro AF, Krupinski EA, Schwartz SA, et al. Bone marrow edema pattern in advanced hip osteoarthritis: quantitative assessment with magnetic resonance imaging and correlation with clinical examination, radiographic findings, and histopathology. *Skeletal Radiol*. 2008; 37(5): 423-31.
167. Buckland-Wright C. Subchondral bone changes in hand and knee osteoarthritis detected by radiography. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004; 12:10-9.
168. Dieppe P, Cushnaghan J, Young P, Kirwan J. Prediction of the progression of joint space narrowing in osteoarthritis of the knee by bone scintigraphy. *Ann Rheum Dis*. 1993; 52(8): 557-63.
169. Sanchez C, Pesesse L, Gabay O, Delcour JP, Msika P, Baudouin C, et al. Regulation of subchondral bone osteoblast metabolism by cyclic compression. *Arthritis Rheum*. 2012; 64(4): 1193-203.
170. Doral MN, Dönmez G, Atay ÖA, Bozkurt M, Leblebicioğlu G, Üzümcügil A, et al. Dejeneratif eklem hastalıkları. *Totbid Dergisi*. 2007; 6: 56-65.
171. Harris ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Segent JS, Ruddy S, et al. Kemik, eklemler, bağ dokusunun yapı ve fonksiyonu. In *Kelley Romatoloji*. Goldring SR, and Goldring MB, editors. İstanbul: Güneş Kitapevi. 2006; 1- 34.
172. Kuru Ö. Kıkırdak Biyokimyası ve Osteoartrit Patogenezi. In *Osteoartrit*. Karaaslan Y, editor. Ankara. 2000; 10- 27.
173. Apraş Ş, Çobankara V. Osteoartritin Laboratuvar Bulguları. In *Osteoartrit*. Karaaslan Y, editor. Ankara. 2000; 114-8.
174. Pelletier JP, Martel Pelletier J, Abramson SB. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis & Rheumatism*. 2001; 44: 1237-1247.

175. Atay MB. Osteoartrit In: Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. Beyazova M, Kutsal YG, editors. Ankara. 2011; 2537-62.
176. Evcik D, Babaoğlu Ü. Osteoartrit Etyopatogenezi. In: Tanıdan Tedaviye Osteoartrit. M. Sarıdoğan, editor. İstanbul. 2007; 51-71.
177. Henrotin Y, Bruckner P, Pujol JP. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2003; 11: 747-55.
178. Saxne T, Lindell M, Mansson B, Petersson I, Heinegard D. Inflammation is a feature of the disease process in early knee joint osteoarthritis. *Rheumatology*. 2003; 42: 903-905.
179. Manek NJ, NE Lane. Osteoarthritis: current concepts in diagnosis and management. *Am Fam Physician*. 2000; 61(6): 1795-804.
180. Henry J, Mankin D. Pathogenesis of Osteoarthritis. In: Kelley's Textbook of Rheumatology, sixth edition, volume II, Saunders. 2001; 76-89.
181. Keen, H.I. and P.G. Conaghan, Ultrasonography in osteoarthritis. *Radiol Clin North Am*. 2009; 47(4): 581-94.
182. Nicolaou S, Liang T, Murphy DT, Korzan JR, Ouellette H, Munk P. Dualenergy CT: a promising new technique for assessment of the musculoskeletal system. *A.R Am J Roentgenol*. 2012; 199: 578-86.
183. Richette P, Poitou C, Garnero P, Vicaut E, Bouillot JL, Lacorte JM, et al. Benefits of massive weight loss on symptoms systemic inflammation and cartilage turnover in obese patients with knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(1): 139-44.
184. Uthman OA, van der Windt DA, Jordan JL, Dziedzic KS, Healey EL, Peat GM, et al. Exercise for lower limb osteoarthritis: systematic review incorporating trial sequential analysis and network meta-analysis. *BMJ*. 2013; 347: 5555.
185. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nature Reviews Genetics*. 2011;12: 99-110.

186. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2014; 15: 509-24.
187. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi*. 2011; 38.
188. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic acids research*. 2008; 36: 154-58.
189. <http://www.mirbase.org/>.
190. Sonkoly E, Pivarcsi A. microRNAs in inflammation. *International reviews of immunology*. 2009; 28: 535-61.
191. Nakasa T, Nagata Y, Yamasaki K, Ochi M. A mini-review: microRNA in arthritis. *Physiological Genomics*. 2011; 43: 566-70.
192. He L, He X, Lowe SW, Hannon GJ. microRNAs join the p53 network— another piece in the tumour-suppression puzzle. *Nature Reviews Cancer*. 2007; 7:819-22.
193. Callis TE, Chen JF, Wang DZ. MicroRNAs in skeletal and cardiac muscle development. *DNA and cell biology*. 2007; 26: 219-25.
194. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10: 111-22.
195. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics*. 2008; 9: 102-14.
196. Yates LA, Norbury CJ, Gilbert RJ. The long and short of microRNA. *Cell*. 2013; 153: 516-9.
197. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*. 2009; 136: 642-55.
198. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2009; 10: 126-39.

199. Lee Y, Han J, Yeom KH, Jin H, Kim V. Drosha in primary microRNA processing. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2006; 51-57.
200. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003; 425: 415-19.
201. Melo SA, Kalluri R. Molecular pathways: microRNAs as cancer therapeutics. *Clinical Cancer Research*. 2012; 18: 4234-39.
202. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes & development*. 2003; 17:3011-16.
203. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004; 303: 95-98.
204. Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*. 2005; 436: 740-744.
205. Meister, G. Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nature Reviews Genetics*. 2013; 14: 447-59.
206. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets *Cell*. 2005; 120: 15-20.
207. Wu C, Tian B, Qu X, Liu F, Tang T, Qin A, et al. MicroRNAs play a role in chondrogenesis and osteoarthritis. *Int J Mol Med*. 2014; 34(1): 13-23.
208. Korn T, Betteli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol*. 2009; 27: 485-517.
209. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989; 7: 145-73.

210. Kazanecki CC, Uzwiak DJ, Denhardt DT. Control of osteopontin signaling and function by post-translational phosphorylation and protein folding. *J Cell Biochem.* 2007; 102(4): 912–24.
211. Kahles F, Findeisen HM, Bruemmer D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabets. *Mol Metab.* 2014; 3(4): 384-93.
212. Patarca R, Freeman GJ, Singh RP, Wei FY, Durfee T, Blattner F, et al. Structural and functional studies of the early T lymphocyte activation 1 (Eta-1) gene. Definition of a novel T cell-dependent response associated with genetic resistance to bacterial infection. *J Exp Med.* 1989; 170(1): 145–61.
213. Haylock DN, Nilsson SK. Osteopontin: A bridge between bone and blood. *BrJHaematol.* 2006; 134: 467-74.
214. Matsui Y, Iwasaki N, Kon, S, Takahashi D, Morimoto J, Matsui Y, et al. Accelerated development of aging-associated and instability-induced osteoarthritis in osteopontin-deficient mice. *Arthritis and Rheumatism.* 2009; 60/8: 2362–71.
215. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: Regulation of inflammation, tissue remodelling, and cell survival. *J Clin Invest.* 2001; 107: 1055–61.
216. Kon S, Ikesue M, Kimura C, Aoki M, Nakayama Y, Saito Y, et al. Syndecan-4 protects against osteopontin-mediated acute hepatic injury by masking functional domains of osteopontin. *J Exp Med.* 2008; 205: 25–33.
217. Murugaiyan G, Mittal A, Weiner HL. Identification of an IL-27/osteopontin axis in dendritic cells and its modulation by IFN-gamma limits IL-17-mediated autoimmune inflammation. *Proc Natl Acad Sci.* 2010; 107(25):11495-500.
218. Lin D, Li L, Sun Y, Wang W, Wang X, Ye Y, et al. IL-17 regulates the expressions of RANKL and OPG in human periodontal ligament cells via TRAF6/TBK1-JNK/NF-kappaB pathways. *Immunology.* 2015; 144. 3: 472-85.
219. Dong X, Zheng Y, Liu HY. The clinical significance of serum and joint fluid osteopontin, and thrombin-cleaved osteopontin levels in osteoarthritis *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2013; 52: 1023–27.

220. Günel T. Gen anlatımının kantitatif analizi “ Real-time PCR”. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2007; 27: 763-7.
221. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ Methods. 2001; 25: 402–8.
222. Gu YT, Chen J, Meng ZL, Ge WY, Bian YY, Cheng SW, et al. Research progress on osteoarthritis treatment mechanisms. Biomed Pharmacother. 2017; Jul 20; 93: 1246–52.
223. Hoch JM, Mattacola CG, McKeon JM, Howard JS, Lattermann C. Serum cartilage oligomeric matrix protein (SCOMP) is elevated in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. Osteoarthritis Cartilage. 2011; 19(12): 1396-404.
224. Iliopoulos D, Malizos KN, Oikonomou P, Tsezou A. Integrative microRNA and proteomic approaches identify novel osteoarthritis genes and their collaborative metabolic and inflammatory networks. PLoS One. 2008; 3: 3740.
225. Díaz-Prado S, Cicione C, Muiños-López E, Hermida-Gómez T, Oreiro N, Fernández-López C, et al. Characterization of microRNA expression profiles in normal and osteoarthritic human chondrocytes. BMC musculoskeletal disorders. 2012; 13: 144.
226. Beyer C, Zampetaki A, Lin NY, Kleyer A, Perricone C, Iagnocco A, et al. Signature of circulating microRNAs in osteoarthritis. Annals of the rheumatic diseases. 2014; 73: 60-61.
227. Tuddenham L, Wheeler G, Ntounia-Fousara S, Waters J, Hajihosseini MK, Clark I, et al. The cartilage specific microRNA-140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells. FEBS letters. 2006; 580: 4214-17.
228. Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, Grogan SP, Higashiyama R, Inoue A, et al. MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 responses. Arthritis & Rheumatism. 2009; 60: 2723-30.

229. Miyaki S, Sato T, Inoue A, Otsuki S, Ito Y, Yokoyama S, et al. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes & development*. 2010; 24: 1173-85.
230. Tardif G, Hum D, Pelletier JP, Duval N, Martel-Pelletier J. Regulation of the IGFBP-5 and MMP-13 genes by the microRNAs miR-140 and miR-27a in human osteoarthritic chondrocytes. *BMC musculoskeletal disorders*. 2009; 10: 148.
231. Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S, Anbazhagan AN, Voss FR, Haqqi TM. MicroRNA-27b regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*. 2010; 62:1361-71.
232. ElSharawy A, Keller A, Flachsbart F, Wendschlag A, Jacobs G, Kefer N, et al. Genome-wide miRNA signatures of human longevity. *Aging cell*. 2012; 11:607-16.
233. Hooten NN, Abdelmohsen K, Gorospe M, Ejiogu N, Zonderman AB, Evans MK. microRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age. *PloS one*. 2010; 5:10724.
234. Olivieri F, Spazzafumo L, Santini G, Lazzarini R, Albertini MC, Rippo MR, et al. Age-related differences in the expression of circulating microRNAs: miR-21 as a new circulating marker of inflammaging. *Mechanisms of ageing and development*. 2012; 133: 675-85.
235. Okuhara A, Nakasa T, Shibuya H, Niimoto T, Adachi N, Deie M, et al. Changes in microRNA expression in peripheral mononuclear cells according to the progression of osteoarthritis. *Modern rheumatology*. 2012; 22: 446-57.
236. Sheedy F, O'Neill L. Adding fuel to fire: microRNAs as a new class of mediators of inflammation. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2008; 67: 50-55.
237. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore, D. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006; 103:12481-6.
238. Ceppi M, Pereira PM, Dunand-Sauthier I, Barras E, Reith W, Santos MA, et al. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human

- monocyte-derived dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009; 106: 2735-40.
239. O'Connell RM, Taganov KD, Boldin M, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007; 104: 1604-9.
240. Yamasaki K, Nakasa T, Miyaki S, Ishikawa M, Deie M, Adachi N, et al. Expression of microRNA-146a in osteoarthritis cartilage. *Arthritis & Rheumatism*. 2009; 60: 1035-41.
241. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008; 105: 10513-8.
242. Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *European heart journal*. 2010; 31: 659-666.
243. Wang K, Zhang S, Marzolf B, Troisch P, Brightman A, Hu Z, et al. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009; 106: 4402-7.
244. Miyaki S and Asahara H. Macro view of microRNA function in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2012; 8: 543-552.
245. Snelling SJ, Bas S, Puskas GJ, Dakin SG, Suva D, Finckh A, et al. Presence of IL-17 in synovial fluid identifies a potential inflammatory osteoarthritic phenotype. *PLoS One*. 2017; 12(4):0175109.
246. Sowers M, Jannausch M, Stein E, Jamadar D, Hochberg M, Lachance L, et al. C reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002; 10: 595-601.
247. Spector TD, Hart DJ, Nandra D, Doyle DV, Mackillop N, Gallimore JR, et al. 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.

ÖZGEÇMİŞ

A. Kişisel bilgiler

Adı soyadı: Sıla Hidayet Bozdoğan Polat

Doğum tarihi: 07.03.1989

Yabancı dil bilgisi: İngilizce

Görev yeri: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

E-posta adresi: sila.polat@istanbul.edu.tr, silabozdogan@gmail.com

Telefon: 0(507) 550 56 28

B. Eğitim bilgileri

Mezun olduğu üniversite/fakülte: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mezuniyet tarihi: 2012

C. İş tecrübesine ait bilgiler

Bugüne kadar çalıştığı kurum/kuruluşlar: İstanbul Gaziosmanpaşa TSM, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul Haseki E.A.H. , İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

EK:1 BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

İstanbul Arnavutköy Devlet Hastanesi Ortopedi Kliniği ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ile yürütülecek ‘‘Osteoartritli hastaların sinovyal sıvı- larındaki (diz içi sıvısı) mikroRNA 129-3p değerlendirilmesi’’ başlıklı bilimsel çalışma için hazırlanmıştır.

Amaç

Bu çalışma bilimsel bir araştırmadır. Araştırmanın amacı osteoartrit hastaları için yeni bir tanı ve tedavi aracı ortaya koymaktır. Bu araştırma için sıvı alımı öncesinde farklı bir tedavi uygulanmayacaktır. Tedaviniz için ameliyat esnasında zaten dışarıya akacak diz içi sıvınız- dan bir miktar örnek alınacaktır.

Bu araştırma için herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

Risk

Ameliyat esnasında bu sıvının alınmasının size herhangi bir zararı olmayacağı gibi riski de yoktur. Bu araştırma neticesinde çıkan sonuçlar tedavinizi değiştirmeyecektir.

Ameliyat olurken diz kapsülüne girildiğinde dışarı akacak diz içi sıvısı bir enjektör yardı- mıyla alınacak sonrasında kapaklı bir tüpe konulacaktır. Alınan örnek İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilerek burada santrifüj edilecek, santrifüjden sonra üstte kalan kısım alınarak dondurucuda saklanacak ve deney günü mikroRNA incelemesi yapılacaktır.

Çalışma sonlandığında arta kalan materyaller tıbbi atığa gönderilerek imha edilecektir. Siz- den alınan materyaller bu çalışma haricinde başka bir yerde kullanılmayacaktır.

Gizlilik

Kişisel bilgileriniz araştırma sonuçları yayımlansa dahi gizli tutulacak ve kamuoyu ile pay- laşılmayacaktır.

Etik kurul ve çalışmayla ilgili sağlık otoriteleri imzalamış olduğunuz bu bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile sizin orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan ulaşabilir.

Bu araştırmaya katılmak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. İstediğiniz zaman herhangi bir ceza veya yaptırıma maruz kalmadan, hiğbir hakkınızı kaybetmeksizin araştırmadan çekilebilirsiniz.

Bu ęalıřmaya katıldığınız takdirde sizden veya bağlı olduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumu (SGK)'dan herhangi bir ücret alınmayacak, size de herhangi bir ücret denmeyecek.

Bu ęalıřma ile ilgili ęalıřmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde size veya yasal temsilcinize ivedilikle bilgilendirilme yapılacaktır.

Ęalıřma ile ilgili olarak günün herhangi bir saatinde 0(507) 550 56 28 no'lu telefonu arayarak bilgi alabilirsiniz.

Ęalıřma planı

Dizinizdeki ileri evre osteoartrit hastalığı için ameliyat olduğunuz esnada alınacak diz içi sıvısı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde analiz edilecektir. Bu ęalıřmaya katılması planlanan gönüllü sayısı 40'tır. Örneklerin toplanması ve analiz edilmesi için bir yıllık ęalıřma süresi öngörülmektedir.

Onam

Aşağıdaki ifadeyi okuyarak uygun olan kutucuğa işaretleyiniz.

Osteoartritli hastaların sinovyal sıvılarındaki mikroma 129-3p ekspresyonlarının değerlendirilmesi için yapılacak araştırma kapsamında alınan diz içi sıvısının;

Sadece bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Hiğbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

“Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı geçen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiğbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Onaylıyorsanız kutucuğa işaretleyiniz.

Bu bilgilendirilmiş gönüllü olur formu, sizin veya yasal temsilcinizin yasal haklarını ortadan kaldıracak bir hüküm ve ifade içermez ayrıca araştırmacıyı ve kurumunu destekleyici veya bunların temsilcilerini kendi ihmallerinden kaynaklanan herhangi bir yükümlölükten kurtaracak hüküm veya ifade taşımaz.

Tüm formu okuyup anladığınızı ve kabul ettiğinizi kendi el yazınız ile aşağıdaki bölüme yazınız.

.....
.....
.....
.....
.....

Hasta veya yasal temsilcisinin Adı-Soyadı

Hekim Adı-Soyadı:

İmza:

İmza:

Tarih :

Tarih:

Telefon :

Telefon: