

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADAM12, GDF5 VE TIMP4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
DİZ OSTEOARTRİTİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Neslihan Pınar ÖZATEŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. İ. Ömer BARLAS

MERSİN – 2015

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADAM12, GDF5 VE TIMP4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
DİZ OSTEOARTRİTİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Neslihan Pınar ÖZATEŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. İ. Ömer BARLAS

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TBB (NPÖ) 2014-4 YL kodlu proje olarak desteklenmiştir.


Tez No: 285

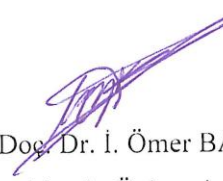
MERSİN – 2015


Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan "ADAM12, GDF5 ve TIMP4 Gen Polimorfizmlerinin Osteoartrit İle İlişkisinin Araştırılması" başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30/07/2015


Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL
Mersin Üniversitesi
Jüri Başkanı


Doç. Dr. İ. Ömer BARLAS
Mersin Üniversitesi
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Halit AKBAŞ
Harran Üniversitesi
Jüri Üyesi


Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 25/07/2015 tarih ve 2015/245. sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Fehmi AFES


TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince bana her konuda yol gösteren ve benimle bilgi ve tecrübelerini paylaşan, tanıştığımızdan bu yana karşılaştığım her türlü problemde hoca kimliğinin ötesinde bana bir ağabey şevkiyle yaklaşan değerli hocam Sayın Doç. Dr. İbrahim Ömer BARLAS'a; başladığımız günden beri ilgi ve desteğini üzerimizden eksik etmeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. M. Emin ERDAL' a, eğitimim süresince emeği geçen değerli hocalarım Sn. Yrd. Doç. Dr. Özlem İZCİ AY'a, Sn. Yrd. Doç. Dr. M. Ertan AY'a, Sn. Prof. Dr. Nurcan ARAS'a, Sn.Prof. Dr. Etem AKBAŞ'a;

Tez çalışmalarım sırasında hasta ve kontrol gruplarını temin etmemdeki destekleri ve çalışmalarını için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ABD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Melek SEZGİN ve Arş. Gör. Dr. Evren YEŞİLDAL'a, deney sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve yorumlanmasında bilgi ve katkılarını sunan Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD Arş. Gör. Didem OVLA'ya;

Gerek akademik gerek sosyal hayatımda, tanışmış olduğum için kendimi şanslı hissettiğim, her durumda yanımda olan ve olacaklarını bildiğim, özellikle tez çalışmam sırasındaki maddi ve manevi destekleri için Arş. Gör. Hale GÜLER'e, Arş. Gör. Gurbet DOĞRU'ya, Arş. Gör. Ümit KARAKAŞ'a, Arş. Gör. Nisa UYAR'a ve bütün çalışma arkadaşlarıma;

Eğitim hayatımın asıl mimarı, her zaman her konuda koşulsuz destek ve sevgisinin yanı sıra sabır ve duası ile de yanımda olan sevgili anneme; kardeşlerime ve hayatıma dahil olduğu bu kısacık sürede bir sürü güzellik katarak hayata bakışımı değiştiren Cüneyt AY'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Osteoartrit	4
2.2. Etiyolojisi	4
2.2.1. Risk Faktörleri	4
2.2.1.1. Sistemik Faktörler	6
2.2.1.1.1. Yaş	6
2.2.1.1.2. Cinsiyet	6
2.2.1.1.3. Cinsiyet Hormonları	7
2.2.1.1.4. Kemik Yoğunluğu ve Osteoporoz	7
2.2.1.1.5. Genetik	8
2.2.1.1.6. Beslenme	8
2.2.1.2. Mekanik Faktörler	9
2.2.1.2.1 Obezite	9
2.2.1.2.2 Akut Eklem Yaralanmaları ve Tekrarlayan Eklem Yüklenmeleri	10
2.2.1.2.3. Eklem Deformitesi	10
2.2.1.2.4. Kas Kuvveti ve Zayıflığı	11
2.3. Prevalansı ve İnsidansı	11
2.4. Patolojisi	12
2.4.1. Normal Eklem Yapısı	12
2.4.2. Osteoartritik Eklem Yapısı	13
2.5. Tanı Kriterleri	16

2.6. Sınıflandırılması	17
2.7. Diz Osteoartriti	19
2.8. Osteoartritin Genetik Yönü	21
2.8.1 Aday Genler	24
2.8.1.1. A Disintegrin And Metalloproteinase 12 (ADAM12)	29
2.8.1.2. Growth and Differentiation Factor 5 (GDF5)	31
2.8.1.3. Tissue İnhibitor Metalloproteinase (TIMP4)	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	38
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	38
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	38
3.1.3. Çözeltiler	39
3.2. Hasta Ve Kontrol Grubunun Oluşturulması	40
3.3. DNA İzolasyonu	40
3.3.1. Miller Tuz Çöktürme Yöntemi	40
3.3.2. Kit Yöntemi	42
3.4. Genotiplerin Belirlenmesi	42
3.4.1. SNP Özellikleri	43
3.4.2. Real Time-PCR Reaksiyon Ortamının Hazırlanması	44
3.5. Genotip Tayini	45
3.6. İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	49
4.1. Genotip Dağılımı ve Allel Frekanslarının Değerlendirilmesi	50
4.1.1 ADAM12 G>C rs3740199 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı	50
4.1.2 GDF5 A>G; rs143383 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı	52
4.1.3 TIMP4 G>A; rs308952 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı	53
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
7. KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Osteoartrit patogenezi için kavramsal model	5
Şekil 2.2. Normal eklem kıkırdağının yapısı	12
Şekil 2.3. Kıkırdak metabolizmasında homeostazisin sağlanması.....	14
Şekil 2.4. Osteoartritik eklemdeki değişiklikler.....	14
Şekil 2.5. Sinoviyal eklemlerde OA gelişimine sebep olan moleküller ve aktivite gösterdikleri dokular	15
Şekil 2.6. Osteoartritin moleküler ve hücre sel mekanizması	16
Şekil 2.7. Genlerin OA üzerine etki mekanizması	25
Şekil 2.8. Transmembran ADAM proteinlerinin genel moleküler yapısı	30
Şekil 2.9. ADAM12 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu	30
Şekil 2.10. GDF5 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu	32
Şekil 2.11. Ensembl veritabanında gösterilen insan GDF genine ait genomik düzen ...	33
Şekil 2.12. TIMP ailesi proteinlerinin MMP inhibisyonundaki rolü	35
Şekil 2.13. TIMP4 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu	35
Şekil 3.1 GDF5 rs143483 için TaqMan® MGB prob lar ile allelik ayrımı	46
Şekil 3.2 ADAM12 rs3740199 polimorfizmi G>C için genotipleme sonucunda elde edilen grafikte homozigot C/C genotipi.....	46
Şekil 3.3. ADAM12 rs3740199 polimorfizminde genotipleme sonucunda elde edilen grafikte homozigot G/G genotipi.....	47
Şekil 3.4. ADAM12 rs3740199 polimorfizmi için elde edilen grafikte heterozigot C/G Genotipi	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Diz OA gelişiminde risk faktörleri	19
Çizelge 2.2. Farklı populasyon çalışmalarında semptomatik diz OA' nın yaşa bağımlı artışı	20
Çizelge 2.3. Genomik bağlantı analizi sonucu diz osteoartriti ile ilişkilendirilen kromozom bölgeleri.....	23
Çizelge 2.4. Osteoartrit ile genetik bağlantısı bulunan bazı genler.....	27
Çizelge 3.1. Manuel DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltiler.....	39
Çizelge 3.2. ADAM12 genine ait rs3740199 özellikleri	43
Çizelge 3.3. GDF5 genine ait rs143383 özellikleri	43
Çizelge 3.4. TIMP4 genine ait rs308952 özellikleri	44
Çizelge 3.5. Real-Time PCR için kullanılan kimyasal miktarları ve protokoller	45
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet açısından dağılımı	49
Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları	50
Çizelge 4.3. ADAM12 genine ait rs3740199 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı.....	51
Çizelge 4.4. ADAM12 genine ait rs3740199 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları.....	51
Çizelge 4.5. GDF5 genine ait rs143383 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı.....	52
Çizelge 4.6. GDF5 genine ait rs143383 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları	53
Çizelge 4.7. TIMP4 genine ait rs308952 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı.....	54
Çizelge 4.8. TIMP4 genine ait rs308952 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları.....	54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin
AACT	: Alpha-1-antichymotrypsin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACR	: American College of Rheumatology (Amerikan Romatoloji Koleji)
ADAM	: A Disintegrin And Metalloproteinase
ADAMTS	: A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs
AGC1	: Mitochondrial Aspartate-Glutamate Transporter 1
ASPN	: Asporin
BMP	: Bone Morfogenik Protein
C	: Sitozin
CDMP1	: Cartilage Derived Morphogenetic Protein 1
CD36	: Thrombospondin Receptor
CILP	: Cartilage Intermediate Layer Protein
CLTP	: Cartilage Link Protein
COL1A1	: Kollajen I
COL2A1	: Kollajen II
COMP	: Cartilage Oligometric Protein
COX2	: Cytochrome C Oxidase Subunit II
CRP	: C-Reaktif Protein
CRTM	: Cartilage Matrix Protein
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DWVA	: Double Von Willebrand Factor A
G	: Guanin
GDF5	: Growth Differentiation Factor 5
ECM	: Extracellular Matriks (Ekstraselüler matriks)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGF	: Epidermal Growth Factor (Epidermal büyüme faktörü)

ESR	: Estrogen Receptor (Östrojen reseptörü)
FGF	: Fibroblast growth factor (Fibroblast büyüme faktörü)
FRZB	: Frizzled-related protein
GDF-5	: Growth and Differentiation Factor 5
HLA	: Human leukocyte antigen
HW	: Hardy-Weinberg
IGF-1	: Insulin-Like Growth Factor 1 (İnsülin benzeri büyüme faktörü 1)
IGR	: Insulin growth factor (İnsülin büyüme faktörü)
IL	: İnterlökin
KPD	: Kalsiyum Piropsfat Depozisyonu
LRP5	: Low density Lipoprotein Receptor-Related protein 5
MATN3	: Matrilin3
MDC	: Metalloproteaz/ Disintegrin/ Sistein
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MR	: Manyetik rezonans
MT-MMP	: Mitokondriyal metalloproteinaz
NCORD2	: Nuclear Receptor Co-Repressor 2
OA	: Osteoartrit
OP-1	: Ostrogenik protein
QTL	: Quantitative Trait Locus
SNP	: Single Nucleotid Polymorphism
RDOA	: Radyografik diz osteoartrit
T	: Timin
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
TFE	: Tibiofemoral
TIMP	: Tissue İnhibitor of Metalloproteinase
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor
VDR	: Vitamin D Reseptörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

ÖZET

ADAM12, GDF5 veTIMP4 Gen Polimorfizmlerinin Diz Osteoartriti İle İlişkisinin Araştırılması

Osteoartrit kronik ağrılı ve sinoviyal eklemleri tutan bir hastalıktır. Osteoartrit en yaygın görülen artrit formudur. Hastalık her yaşta görülmesine rağmen yaşlı populasyonda prevalansı yüksektir. 65 yaşın üzerindeki bireylerin %65'inde en az bir eklem radyografik bulgulara sahiptir. Artiküler kıkırdağın hasarıyla sonuçlanan bu hastalığın indüklenmesinde, inflamasyonun sekonder komponentleriyle birlikte genetik, metabolik, biyokimyasal faktörler rol oynarlar. Etiyopatogeneizde birçok faktörün rol oynadığı bilinmekle birlikte, son çalışmalarla genetik faktörlerin önemi gösterilmeye başlanmıştır. Osteoartrit etyolojisinin tam olarak aydınlatılması, hastalığın erken tanı ve tedavisi amacıyla çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Bu çalışmada, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve uygulama Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniğine başvuran, Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) tanı kriterlerine göre tanı alan diz osteoartritli 100 hasta ve kontrol grubunu oluşturan 75 kişi çalışmaya dahil edildi. Her iki gruba ait kan örneklerinden DNA izolasyonunu takiben ADAM12 G/C; rs3740199, GDF5 T/C; rs143383 ve TIMP4 A/G; rs308952 polimorfizmleri, real-time PCR (Applied Biosystems) kullanılarak genotipler belirlendi.

Elde edilen veriler, SPSS v.11.5 paket programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. ADAM12 G/C; rs3740199, GDF-5 T/C; rs143383 ve TIMP-4 A/G; rs308952 polimorfizmlerinin kontrol grubundaki bireyler ile diz osteoartritli hastalara ait genotip sıklıkları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı ($p>0,05$).

Sonuç olarak; diz osteoartrit patogenezinde ADAM12 G/C; rs3740199, GDF-5 T/C; rs143383 ve TIMP-4 A/G; rs308952 polimorfizmlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı.

Anahtar kelimeler: Diz osteoartrit, Polimorfizm, ADAM12, GDF5, TIMP4.

ABSTRACT

The Investigation of ADAM12, GDF5 and TIMP4 Gene Polymorphisms Association with Knee Osteoarthritis

Osteoarthritis (OA) is a group of chronic painful, disabling conditions affecting the synovial joints. Osteoarthritis is the most common form of arthritis. Although people can be affected by OA at any age, is it most prevalent in the older population, with 65% of individuals over 65 years old having radiographic evidence of the disease in at least one joint. It results from articular cartilage damage induced by a complex interplay of genetic, metabolic, biochemical, and biomedical factors with secondary components of inflammation .Etiopathogenesis of OA is multifactorial, but the genetic role of disease come into prominence. Research about etiology, early diagnosis and treatment is going on intensively.

In that study a total of 100 participants including patients with primary knee osteoarthritis according to American College of Rheumatology (ACR) diagnostic criteria and 75 healthy controls were enrolled from Mersin University Medical Faculty Clinics of Physical Medicine and Rehabilitation Department. From both of the groups' blood samples sequent of DNA isolation the genotypes detected by using Real-Time PCR (Applied Biosystems) for ADAM12, GDF-5 ve TIMP-4genes.

The acquired data, evaluated statistically by SPSS v.11.5 packet program. It has detected not to be meaningful difference in genotype frequency between the individuals of ADAM12 G/C; rs3740199, GDF-5 T/C; rs143383 ve TIMP-4 A/G; rs308952 polimorphisms' control group's and knee osteoarthritis patients' ($p>0,05$).

As a result; in knee osteoarthritis pathogenesis it has detected the ADAM12 G/C; rs3740199, GDF-5 T/C; rs143383 ve TIMP-4 A/G; rs308952 polimorphisms not to be statistically significant.

Key words: Knee osteoarthritis, Polymorphism, ADAM12, GDF5, TIMP4.

1.GİRİŞ

Osteoartrit (OA) dünyada en sık görülen dejeneratif eklem hastalıklarından birisidir. OA oluşumu birçok çevresel ve davranışsal faktörler ile ilişkili olmasına rağmen, etiyojisi büyük ölçüde bilinmemektedir (1). Hastalık, eklem kıkırdağının ilerleyen kaybı ile eklemden kronik ağrı ve fonksiyonel kısıtlamalara neden olan osteofit oluşumuyla karakterize edilmektedir. OA gelişiminde farklı faktörler rol oynamaktadır. Çoğunlukla travmatik olaylar neden olsa da, genetik yatkınlık, eklemlerin hatalı pozisyonu, yaşlanma ve kötü beslenme gibi diğer faktörler de eklem kıkırdağında benzer değişikliklere yol açmaktadır (2).

Framingham çalışmasına göre; OA için önemli risk faktörleri, yaş, cinsiyet, obezite, coğrafik faktörler, sigara kullanımı, diz katlama hareketi, fiziksel uğraşlar, genetik faktörler, ırk, eklem travmaları, hareketsizlik, aşırı hareketlilik, eklem sıvısındaki kondrokalsinozis ve kristaller şeklinde belirlenmiştir. OA prevalansı birçok popülasyonda çalışılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu farklılık popülasyonlar arasındaki yaşam stili, meslek ve genetik farklılıklarından kaynaklanmaktadır (3).

OA'da genetik faktörlerin etkisi ikiz çalışmaları, segregasyon analizi, bağlantı analizi ve aday gen çalışmaları gibi birçok epidemiyolojik çalışma ile araştırılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler kalıtım kalıbı ve mutasyon olabilecek genom bölgeleri hakkında önemli bilgiler sağlanmıştır (4,5,6,7). Bağlantı ve aile çalışmaları ile farklı cinsiyetlerde ve vücudun anatomik olarak farklı bölgelerinde aktif olan genlerin OA üzerinde benzer şekilde etkili olabileceği gösterilmiştir (8). Yayınlanmış bağlantı analizi, aday gen ya da genom genişliği ilişkilendirme çalışmalarında OA yatkınlığı, başlangıcı ve progresyonu ile ilgili bir çok aday genin kromozom 2, 4 ve 16 üzerinde lokalize olduğu belirlenmiştir (9). Vitamin D reseptörü (VDR), tip II kollajen (COL2A1), tip I kollajen (COL1A1), östrojen reseptörü (ESR1), transforme edici büyüme faktörü 1 (TGFB1), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1) ve agrakan genleri aday genlerden bazılarıdır (6,9,10,11). Bunun yanı sıra, bağlantı çalışmaları sonucu OA ile bağlantılı bulunan genler, inflamasyon (İnterlökin 1 (IL1), IL4, Cytochrome C Oxidase Subunit II (COX2), IL6, IL10, Human leukocyte antigen (HLA)), ekstraselüler matriks (ECM) komponentleri (Asporin (ASPN), Martilin

(MATN3), COL2A1, Cartilage Oligometric Protein (COMP), Cartilage Intermediate Layer Protein (CILP)), Wnt sinyali (Frizzled-related protein (FRZB), Low density Lipoprotein Receptor-Related protein 5 (LRP5)), Bone Morfogenik Protein (BMP)'ler (BMP2, BMP5, GDF5), proteazlar ve onların inhibitörleri (ADAM12, Tumor Necrosis Factor (TNA), Alpha-1-antichymotrypsin (AACT)) gibi en az 5 farklı moleküler yolak ya da sınıfta yer almaktadır (12,13).

A Disintegrin And Metalloproteinase (ADAM)'lar, çinko-bağımlı, genel olarak membran-bağılı multidomain ailesinden, multifonksiyonel bir protein grubudur (14). İn vitro ve in vivo çalışmalarda kartilaj degradasyonunun, metalloproteinaz sınıfı enzimlerin matriks metalloproteinaz (MMP) ve ADAM olmak üzere iki büyük ailesi tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir (15, 16, 17). ADAM12 plasenta ve malignant gibi gelişimin ve yeniden şekillenmenin hızlı olduğu dokularda yüksek miktarda eksprese edilen aktif bir proteindir. İnsanda alternatif splacing ile oluşmuş bir ADAM12 formunun osteoartritlik kıkırdak ve serum düzeyleri yüksek bulunmuştur (18).

Growth Differentiation Factor 5 (GDF5), Cartilage-Derived Morphogenetic Protein 1 (CDMP1) olarak da bilinen, transforme edici büyüme faktörü- β süper ailesi üyesidir. BMP ailesi ile de yakın ilişkilidir. Bu gende meydana gelen mutasyonlar kondrodizplazi, sinfalanjizm ve tip C brakidaktili gibi bazı iskelet sistemi düzensizliklerinde tespit edilmiştir (19). Bunun sonucu olarak GDF5'in iskelet gelişiminde önemli bir regülatör olduğu, OA etiyolojisinde de eklem kıkırdağının giderek artan yıkımından sorumlu olduğu düşünülmektedir (19,20).

Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP)'ler doku spesifik, endojen metalloproteinaz inhibitörleridir. ADAM, ADAMT ve MMP ile yakın ilişkilidir. TIMP ailesinin dört (TIMP 1, 2, 3, 4) homolog üyesi vardır. Genel olarak bütün TIMP üyeleri, bilinen tüm MMP tiplerini inhibe edebilmektedir. Örneğin; TIMP1, MT-MMP nin güçlü bir inhibitörü iken MMP14, -15,-16,-19 ve -24'ü de inhibe edebilir. Benzer şekilde TIMP1 ve -3 latent ya da pro-MMP9 ile ilişkili iken TIMP2, -3 ve -4 pro-MMP2 ile interaksiyona girebilir (21).

OA multifaktöriyel bir hastalık olduğu için etiyolojisi şimdiye kadar kesin olarak açıklanamamıştır. Diz osteoartrit tanısı konmuş hastalarda, osteoartritin patogenezinde etkili olduğu düşünülen ADAM12, GDF5, TIMP4 gen polimorfizmlerinin

araştırılmasının amacı, belirlenen bu polimorfizmler ile hastalık arasında herhangi bir ilişki olup olmadığının saptanmasıdır. Çalışmayı özgün kılan ise araştırılan gen polimorfizmlerinin Türk populasyonunda daha önce çalışılmamış olmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OSTEOARTRİT

OA dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen, eklem kıkırdağının degradasyonu sebebiyle yük taşıyan eklemlerin anatomisinin değişimi, subkondral kemik değişiklikleri, eklem kenarında osteofit ya da yeni kemik oluşumu ve eklem kıkırdağının iltihaplanması sonucu oluşan inflamasyon ile karakterize edilen kronik, dejeneratif, multifaktöriyel bir eklem hastalığıdır (22).

OA'nın tipik özelliği, metabolik olarak sürekli aktif olan eklem kıkırdağının yapımı ve yıkımı esnasındaki anabolik ve katabolik süreçler arasında gelişen bir dengesizlik sonucu eklem dokusunun fonksiyonel ve yapısal olarak degradasyonu ya da ilerleyen kaybıdır. Osteoartritde kıkırdak degradasyonunun mekanizması belirsizdir fakat genetik, çevresel, metabolik ve biyokimyasal faktörlerin karmaşık bir etkileşimi sonucu olduğu öne sürülmektedir (2,23).

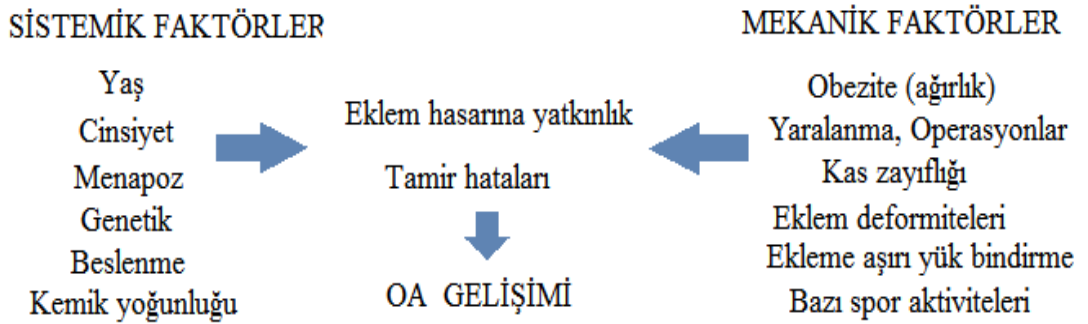
2.2 ETİYOLOJİSİ

Hastalığın nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır fakat Neolitik döneme varan eski tarihlere ait iskelet kalıntılarında bile OA bulgularına rastlanması, OA'nın insanları binlerce yıldır etkileyen bir hastalık olduğunu göstermektedir. OA yalnız insanlarla sınırlı olmayıp başta köpekler ve atlar olmak üzere evcil hayvanların birçoğunda da probleme yol açmaktadır (24).

Eklem yaralanmaları ve obezite gibi mekanik sebeplerin, hastalığın primer başlatıcısı olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra yaş, cinsiyet ve genetik faktörler hastalığın gelişimini ve progresyonunu etkileyen diğer faktörlerdir (22). Etiyolojik risk faktörleri ve patolojik süreçlerin çeşitliliği hastalığın ilerleyen yapısına katkı sağlarken, tanı ve tedavide davranışsal ve farmakolojik girişimlerin hedefi olmaktadır (1).

2.2.1 RİSK FAKTÖRLERİ

OA oluşumunda epidemiyolojik modeller hastalığın patogenezi konusunda potansiyel ipuçları vermektedir. OA patogenezi için son yıllarda kabul gören kavramsal bir model, bu ipuçlarını anlamak için bir çerçeve sunmaktadır. Bu modelin bazı önemli ilkeleri şöyle sıralanabilir; (1) Kıkırdak, kemik, kas, bağ ve diğer eklem doku ve yapıları biyomekanik bir organ sistemi olarak fonksiyon görür ve eklemlere aşırı yük binmesini engeller. (2) Eklem degradasyon hassasiyetini arttıran sistemik faktörler ve eklemin optimum işleyişini bozan biyomekanik faktörler OA gelişme riskini belirlemede önemli bir etkidir; (3) OA gelişimi görülen eklemde bulunduğu bölgeye de bağlı olarak, sistemik ve mekanik faktörlerin etkileşimi hastalığın ne kadar hızlı ilerleyeceğini belirler (Şekil 2.1) (25).



Şekil 2.1. Osteoartrit patogenezi için kavramsal model (25).

Diz, kalça ve el OA'sı üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler, OA patogenezinde sistemik faktörlerin doku zararı ve onarım hatası oluşumu açısından bir çok eklem bölgesinde yatkınlığa sebep olduğunu, lokal mekanik faktörlerin ise hastalığın şiddetinin ve dejenere olacak bölgenin belirlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir (25).

2.2.1.1 Sistemik faktörler

Çeşitli sistemik faktörler diz, kalça ve el OA'sı için risk faktörleri olarak tespit edilmiştir. Bunlar, yaralanmalarda eklem duyarlılığını arttırarak, eklem dokusuna doğrudan hasar vererek veya hasarlı eklem dokusunda onarım sürecini bozarak hareket edebilmektedir (25).

2.2.1.1.1 Yaş

Yapılan tüm çalışmalar, OA'nın semptomatik ve radyografik bulgularındaki prevalans ve insidansın yaşla birlikte belirgin bir şekilde arttığını göstermektedir (26, 27, 28). Bu yaşa bağlı artış OA'nın meydana geldiği tüm eklemlerde görülür, ancak özellikle diz, kalça ve el gibi en sık etkilenen eklemlerde belirgindir. Bunun sebebi olarak, büyüme faktörlerine verilen anabolik cevap yaşla birlikte azaldığı için, kırıkdağın onarıcı kapasitesinin ve esnekliğinin azalması, kondrosit kaybı ve kırıkdağın plakasının incelenmesi gösterilebilmektedir (1, 25).

Birçok eklem bölgesi için, OA prevalansı 50 yaşından önce erkeklerde kadınlardan daha yüksektir. 50 yaşından sonra ise kadınlar el, ayak ve diz OA için daha yüksek prevalans gösterir. Populasyon tabanlı bir araştırmada, hastalığın prevalansı ve insidansının 30-65 yaşları arasında 2 ila 10 kat aralığında artarak devam eden bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (28).

2.2.1.1.2 Cinsiyet

OA ile ilgili olarak kadınlarda erkeklerden daha fazla eklem bölgesinde, daha farklı semptomlar görülmektedir (3). El ve dizdeki birçok eklemlerde OA görülme riskinin yaşla-ilişkili artışı kadınlarda daha fazladır. Bu yüzden 50 yaş üstü kadınlarda bu eklemlerdeki OA prevalansı ve insidansı erkeklerden belirgin bir şekilde daha yüksektir (25). Manninen P. ve ark.'ın (1996) 40-64 yaşları arasında 6647 çiftçi ile

gerçekleştirdikleri 10 yıl süren bir araştırma sonucunda, kadınların erkeklerle kıyaslandığında sağ unilateral, sol unilateral ve bilateral diz OA görülme riskleri sırayla 7.0, 3.3 ve 4.8 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (29). Buna karşılık, kalça OA sıklığı kadınlarda ve erkeklerde yaşla birlikte yaklaşık aynı oranda artmakta olduğu gösterilmiştir (25).

2.2.1.1.3 Cinsiyet Hormonları

Klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik çalışmaların bazılarında OA gelişimi ile cinsiyet hormonları arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir (30, 31). Menopoz sonrası dönemde OA insidansının yaşla ilişkili olarak kadınlarda daha fazla artması, cinsiyet hormonlarının OA gelişiminde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (28, 32). Özellikle düşük östrojen seviyesinin sistemik OA yatkınlığına sebep olduğu düşünülmektedir (25). Yapılan bir çalışmada, erken perimenapozal dönemdeki geçici olarak artan östrojen düzeyinin aksine, düşen progesteron düzeylerinde OA'ya ortam hazırlayacağını ileri sürmüşlerdir (32).

Östrojenin koruyucu etkisi üzerine yapılan retrospektif bir çalışmada, altı çalışma, östrojen kullanımının çok önemli bir faktör olmadığını belirtirken, bir vaka-kontrol çalışmasında, 50 yaş üzeri kadınlarda östrojen terapisinin güçlü bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (33,34).

2.2.1.1.4 Kemik Yoğunluğu ve Osteoporoz

Subkondral kemik sklerozu ve osteofit gibi reaktif kemik oluşumları OA patogenezinde önemli bir özellik olduğu için OA başlangıcı ve progresyonunda kemiğin rolü uzun süre ilgi odağı olmuştur (25). Bu konudaki çalışmalar OA ile osteoporoz arasında ters bir ilişki olduğu konusunda kanıtlar sunmuştur. Bölgesel çalışmaların çoğu yüksek kemik mineral yoğunluğunu, kalça, el ve diz OA prevalansının artışıyla ilişkili bulmuştur (28). Örneğin, Study of Osteoporotic Fractures sonuçlarına göre, osteofit

formasyonu görülen radyografik kalça OA'lı kadınlardaki kemik yoğunluğunun, OA olmayanlarla kıyaslandığında, %8 ile %12 arasında değişen oranlarda daha yüksek olduğu görülmüştür (35). Ayrıca diz OA'lı kadınların nispeten daha yüksek kemik yoğunluğuna sahip olduğu görülmüştür (36). Yapılan başka bir çalışmada ise yüksek kemik dansitesi; radyografik diz, kalça ve el OA riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur (25).

2.2.1.1.5 Genetik

İlk kez Kellgren ve ark.'ları (1963) tarafından rapor edilen, OA'nın birinci derece akrabalarda ikinci derece akrabalara göre iki kat fazla görülmesi, OA'da genetik bir yatkınlık olduğunu ortaya koymuştur (37). OA üzerine yapılan ikiz ve aile çalışmalarında ise tek yumurta ikizleri arasındaki uyumluluğun dizigotik ikizler arasındakine göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir (38). Ancak, genel popülasyondaki OA prevalansı ve geniş klinik heterojenite, OA patogenezinin kesin genetik katkıyı analiz etmeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca, OA insidansı ve şiddetine birden fazla genetik faktörün katkıda bulunduğu açıktır ve spesifik eklem (el, kalça, diz veya omurga), cinsiyet ve ırka göre değişebilmektedir (1). Bunun yanı sıra OA yatkınlığına sebep olduğu düşünülen VDR, COL2A1, COL1A1, ESR1, TGF- β , IGF-1 ve agrakan genleri gibi birçok aday gen vardır. Hastalığın gelişimine tek genlerin de katkısı olabilir (10, 39).

2.2.1.1.6 Beslenme

OA gelişiminde beslenme faktörlerinin de rolü olduğu düşünülmektedir. Hasarlı kıkırdak yapısındaki kondrositlerin oluşturduğu oksijen radikallerinin, kıkırdak ve diğer eklem dokularına oksidatif zarar vererek, OA hassasiyetini arttırdığı düşünülmektedir. Bu nedenle C ve E vitamini gibi antioksidanların diyetle alınımının artırılması OA'ya karşı koruma sağlayabileceği düşünülmektedir (37). Öte yandan D vitamininin

osteoartritlik kıkırdaktaki kondositler üzerinde doğrudan etkili olabileceği belirtilmiştir. D vitamini ise kemik metabolizmasında önemli bir yere sahip olduğu için aşırı yüklenme ve eklem zararına karşı oluşturulacak cevapta modölatör bir göreve sahiptir. OA'lı kıkırdak dokuda bulunan kondrositlerde D vitamini duyarlılığı artmaktadır (25). Lane ve ark. (1999) tarafından D vitaminin osteoartrit üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmaya göre; yüksek düzeyde D vitamini alımının progresif kalça osteoartritine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (28, 40).

Framingham çalışmasına göre; progresif radyografik OA da risk faktörlerinin araştırılmasında, 3 farklı dozajda (az, orta ve yüksek) C vitamini alımının diz ağrısı üzerinde ters orantılı bir etkisi olduğu gözlenirken, osteoartritin radyografik insidansını etkilemediği belirtilmiştir. Ayrıca β -karoten ve E vitamini alımı ile yapılan benzer bir uygulamada ise değişken sonuçlar elde edilmiştir (28, 41).

2.2.1.2 Mekanik Faktörler

Sistemik faktörlerin birden fazla eklemden OA'yı tetiklediği düşünülürken yaralanma, aşırı yük bindirimi gibi durumları kapsayan mekanik faktörlerin zarara uğrayan eklemden OA ya sebebiyet verebileceği düşünülmektedir (25).

2.2.1.2.1 Obezite

Obezite OA için önemli bir risk faktörüdür. Diz, kalça ve ağırlık taşıyan eklemlere uygulanan mekanik kuvvetlerdeki bir artış muhtemelen eklem dejenerasyonuna yol açan birincil faktördür (1). Kilo kaybının diz OA gelişimi riskini azalttığına dair bazı kanıtlar vardır (42). Ayrıca obezite ile ilişkili metabolik faktörler (glukoz ve yağ döngüsü anomalileri ve kronik inflamasyon ile bağlantılı adipositler) OA patogeneğinde rol oynayabilmektedir. Obezite durumunda kan şekeri ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri de kadınlarda diz OA progresyonu ile ilişkili bulunmuştur (25). Ayrıca populasyon çalışmalarının çoğu diz OA ve vücut kitle indeksi (VKİ) arasında

güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir (3,9,29,31). Bunun yanısıra zayıflamanın primer ve sekonder OA gelişimini önlemede etkili bir strateji olduğu gösterilmiştir (42).

2.2.1.2.2 Akut Eklem Yaralanmaları ve Tekrarlayan Eklem Yüklenmeleri

Yaralı eklemde, menisküs ve çapraz bağ yırtılmaları da dahil olmak üzere akut eklem yaralanmaları, diz kırık ve çıkıkları sonraki dönemde OA gelişimi için çok yüksek risk kazandıran durumlardır (43). Buna ek olarak yaraların eklem dokusuna direkt etkisi, hasarlı dokuda normal eklem hareketinin bozulmasına ve yük dağılımının değişmesine sebep olurken, OA görülme sıklığının artmasına neden olmaktadır (44, 45).

Tekrarlayan ve ekleme aşırı yüklenme yapan belirli fiziksel aktiviteler etkilenen eklemlerde OA gelişim riskini artırır (25). Aşırı vücut ağırlığının diz katlanma hareketi üzerindeki etkisi de benzer olduğu için OA riskini arttırmaktadır (46).

2.2.1.2.3 Eklem Deformitesi

Eklem içindeki anormal yük dağılımına sebep olan konjenital anomaliler (örneğin; asetobulardizplazi ya da kalçada femur başı epifiz kayması) etkilenen eklemde OA gelişimi için yüksek risk oluşturur (25).

Dizin mekanik düzeni, hareket esnasında dizdeki yük dağılımı için önemli bir etkidir. Anatomik yapısı normal olan dizde taşınan yükün %60-70'i mediyal bölgeye aktarılır. OA 'lı dizde varus ve valgus bozuklukları, medial ve lateral bölgeler oranla göre daha sık görülür. Varus degenerasyonu bulunan OA'lı bir dizin medial kısmındaki eklem boşluğunun daralma riski 3-4 kat fazladır. Valgus düzensizliği olan OA'lı dizde de lateral kısmındaki dejenerasyon, eklem boşluğunda daralma riskini benzer oranlarda arttırmaktadır (28).

2.2.1.2.4 Kas Kuvveti ve Zayıflığı

Aktivite sırasındaki güçlü kas kasılmaları eklemlere binen yükü arttırır (25). Yapılan bir çalışmada, erkeklerde kavrama sırasında büyük kuvvete maruz kalan el eklemleri, OA gelişim riskinin artışı ile ilişkilendirilmiştir (47). Öte yandan, yürüme esnasında birlikte kasılan kuadriseps ve diz ardı kaslarının, dize yapılan yüklenmeyi azaltarak OA gelişimine karşı koruyucu etki yapabileceği tahmin edilmektedir (48).

2.3 PREVALANSI VE İNSİDANSI

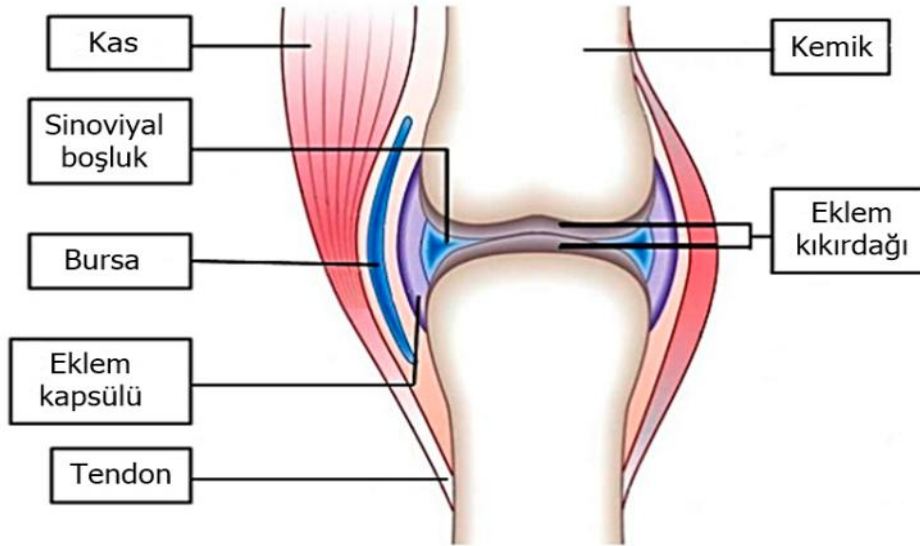
Osteoartritin prevalansı, araştırma yapılan popülasyonlardaki farklı yaşam stillerinden kaynaklanan genetik farklılık, yaş, farklı iş yükü ve tanı metodunun özelliklerine göre değişkenlik gösterir (3). OA en fazla diz, kalça, el, omurga ve ayak eklemlerinde görülürken, omuz, el ve ayak bileklerinde daha az görülmektedir. Kadınlarda görülme sıklığı erkeklerden daha fazladır. Yapılan çalışmalarda 70 ve 90 yaşları arasındaki erkeklerin %60'ında, kadınların ise %70'inde kartilaj erozyonları, subkondral reaksiyon ve osteofit tespit edildiği bildirilmektedir (25). Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yapılan epidemiyolojik çalışmalarda erişkinlerin %33'ünde, 65 yaş üzerindeki kişilerin ise %90'ında radyolojik osteoartrit varlığı tespit edilmiştir (49).

Osteoartritte insidans çalışmaları nispeten daha azdır. Mayo kliniğinin yaptığı bir çalışmada diz OA insidansının kadınlarda erkeklerden daha yüksek olmasına rağmen kalça OA insidansında büyük bir fark olmadığı belirtilmiştir. Bunun yanı sıra semptomatik el osteoartriti insidansı yılda 100/100000, kalça osteoartriti insidansı 88/100000 ve diz osteoartriti insidansı 240/100000 olarak tespit edilmiştir (2).

2.4 PATOLOJİSİ

2.4.1 Normal Eklem Yapısı

Hareket sistemimizin temel yapılardan biri olan eklemler iki veya daha fazla kemiğin birleştiği alanlardır. Eklemler işlevlerine göre; fibröz, kartilaginöz ve sinoviyal eklemler olmak üzere üç sınıfta incelenir. Fibröz eklemler (sinartroz) kafatası kemiklerinin birleşme bölgelerindeki, hareket yeteneği olmayan eklemlerdir. Kartilaginöz (amfiartroz) eklemler ise eklemlerin sınırlı hareketine izin veren, yüzeyleri kıkırdakla örtülü eklemlerdir. En hareketli bölgelerde ise sinoviyal eklemler bulunur. Sinoviyal eklemlerde kıkırdakla örtülü eklem yüzeyi, kapsülle çevrili bir eklem boşluğuna sahiptir. Eklem boşluğu sinoviyal sıvı ile doludur. Eksenlerine göre tek eksenli, iki eksenli, ikiden fazla eksenli ve belirli bir eksenli olmayan eklemler olarak dörde ayrılırken, anatomik yapılarına göre pivot, menteşe, kayar, top-yuva ve eyer eklem olarak tanımlanmıştır (51,52,53).

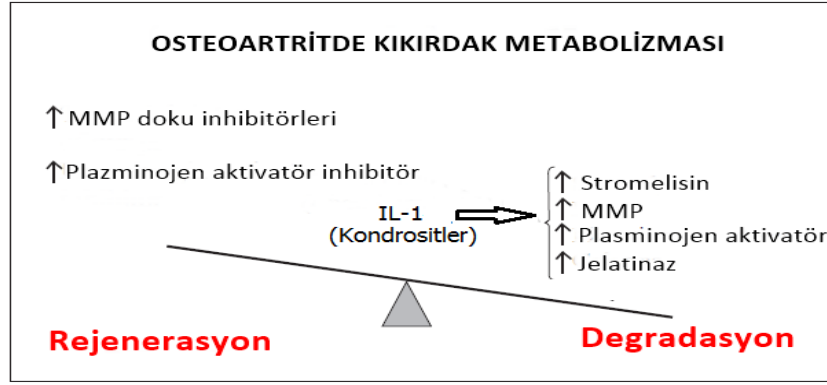


Şekil 2.2: Normal eklem kıkırdağının yapısı (50).

Sinoviyal eklemlerin yapısal elemanları bursalar, eklem bağları, eklem kapsülü, sinoviyal sıvı, kıkırdak ve subkondral kemikten oluşur. Bursalar, eklem çevresindeki kemik, kas ve tendonlar arasında tampon görevi yapan, sinoviyal sıvıyla dolu bezelerdir. Eklem bağları, eklemi oluşturan kemiklerin birbirine bağlanmasını ve stabilitesini sağlar. Stabiliteye yardımcı olan eklem kapsülünün yüzeyi, sinoviyal sıvıyı salgılayan sinoviyal zar ile kaplıdır. Sinoviyal sıvı eklem yüzeylerinin kayganlaşmasını sağlayarak aşınmasını önlerken, kıkırdağın da beslenmesini sağlar. Eklem kıkırdağı eklem esneklik kazandırıp, eklem yüzeylerinin birbirine uyumunu sağlar. Ayrıca eklem uygulanan yükü dağıtarak kemik yüzeylerin aşınmasını önler. Kıkırdak dokusunda kıkırdak hücreleri ve matriks olarak iki temel yapı fark edilir. Matriksin en önemli yapısal proteinleri proteoglikanlar ve kollajenlerdir. Subkondral kemik de, spesifik yapısıyla eklem fonksiyonunu destekleyerek kemiklere uygulanan basıncın düzenli olarak transferinde önemli bir rol oynar (Şekil 2.2) (51, 52, 53).

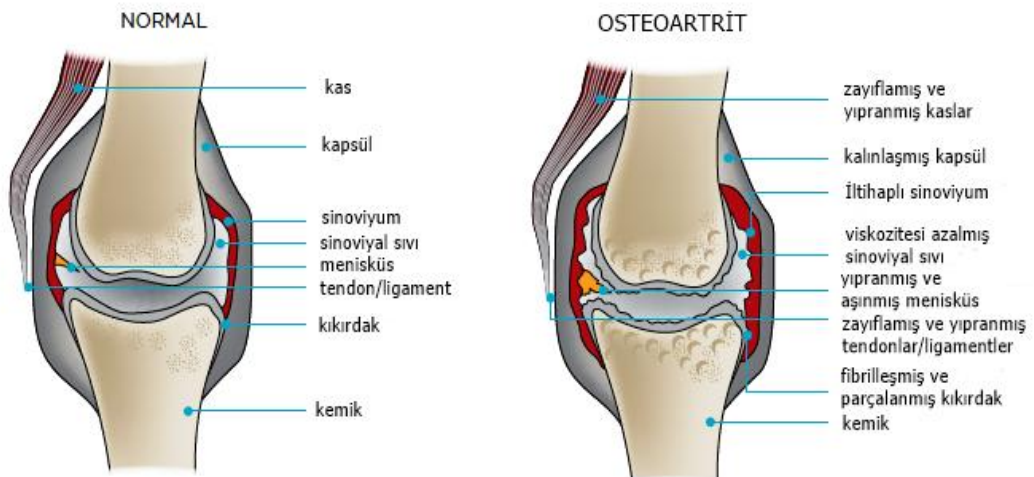
2.4.2 Osteoartritik Eklem Yapısı

OA; başta sinoviyal eklemi oluşturan kıkırdak olmak üzere, sinoviyal membran, subkondral kemik, ligament ve periartiküler yapılar gibi eklemün tüm elemanlarını etkileyen bir hastalıktır (54). Eklem kıkırdağının sentezi ve yıkımı arasındaki dengesizlik sonucu, kıkırdağın aşınması ve tahribiyeti gibi patolojik süreçler ile karakterize edilir ve hareketli eklemlerin non-inflamatuvar, kronik dejeneratif durumudur (Şekil 2.3) (55). OA'nın morbidite ve prevalansı yüksek olmasına rağmen nedeni henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar OA'nın osteoartritik eklem kıkırdağındaki biyokimyasal, hücrel ve metabolik proseslerdeki değişimler sonucu meydana geldiğini göstermektedir (56).



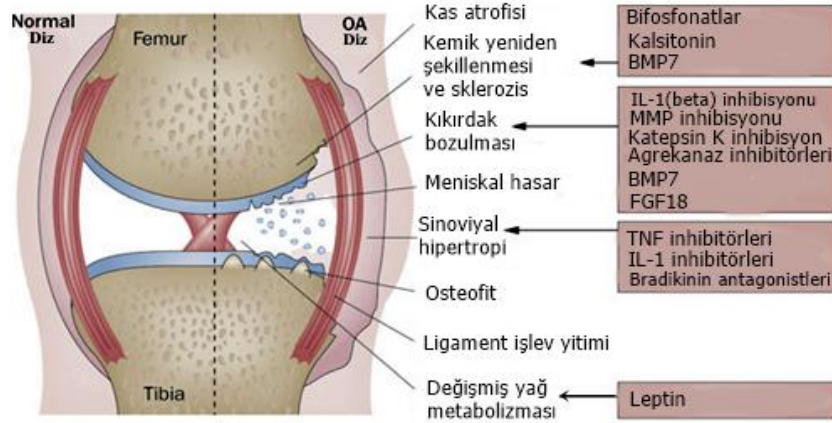
Şekil 2.3: Kıkırdak metabolizmasında homeostazisin sağlanması (59).

OA primer olarak, eklem kıkırdağının fonksiyon ve yapısının ilerleyen degradasyonu ile karakterizedir. Ekstrasellüler matriksin enzimatik degradasyonu artiküler kondrositlerin kendi kendini degrades etmesine neden olmaktadır (kondrositik kondrolizis). Kondrositler sağlıklı kıkırdak dokusunda homeostasisinin sürdürülmesini sağlarken OA'da eklem kıkırdağını koruyamamaktadır. Homeostasisin sağlanmasında önemli rol oynadıkları için, kondrosit regülasyonu OA araştırmalarının odak noktası olmuştur (58).



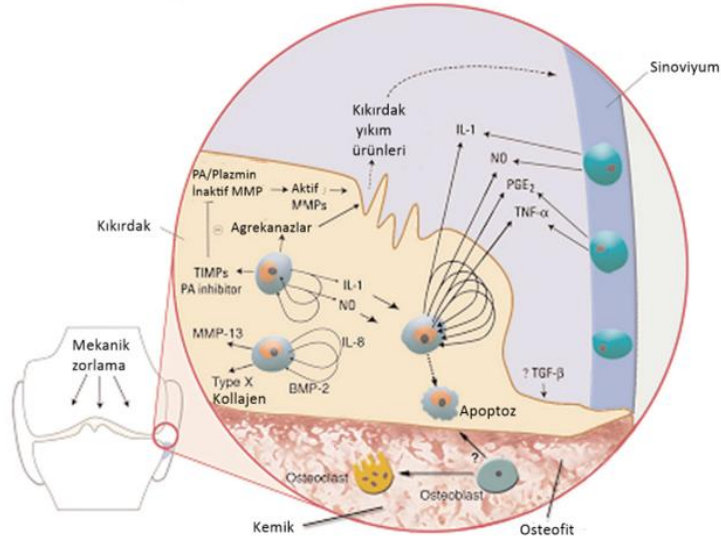
Şekil 2.4: Osteoartritlik eklemdaki değişiklikler (57).

OA'nın patofizyolojik prosesi üç kısımda incelenebilir: İlk aşamada matriks-ağı moleküler düzeyde degrade olmaktadır. Sıvı içeriği artmakta ve agrakan gibi matriks moleküllerinin hacmi azalmaktadır. Bozulan kollajen ağının yapısı kartilaj sertliğinin azalmasına neden olmaktadır. İkinci aşamada kondrositler, artmış proliferasyon ve metabolik aktivite ile meydana gelen hasarı kompanse etmeye çalışmaktadır. Hücre toplulukları yeni sentezlenen matriks molekülleriyle çevrenmektedir. Bu durum birkaç yıl devam edebilmektedir. Üçüncü aşamada kondrositler onarım aktivitesini sürdürememekte, böylece kıkırdak dokusunun tamamının kaybıyla sonuçlanmaktadır. Subkondral kemikte fibrilasyon ve kistik yapıların oluşumu gözlenir ve OA'yı diğer artritlerden ayıran osteokondral nodüller yani osteofit oluşumu gerçekleşir (Şekil 2.4) (2, 60).



Şekil 2.5: Sinoviyal eklemlerde OA gelişimine sebep olan moleküller ve aktivite gösterdikleri dokular (61).

Osteoartritlik kıkırdakta fizyolojik olarak kartilaj gelişiminde gerekli birçok büyüme faktörü, sitokin ve sinoviyum kondrositler tarafından üretilmektedir. ECM sentezi IGF-1, TCF- β , FGF ve BMP gibi anabolik faktörlerce stimüle edilmektedir (Şekil 2.5) (2).



Şekil 2.6: Osteoartritin moleküler ve hüresel mekanizması (1).

Kondrositler matriks onarım prosesini stimüle ederken fibronektin ve tip-2 kollajen fragmentleri gibi protein degradasyon fragmentlerinin kıkırdak degradasyonunun indüklenmesinde rol oynadığı görülmüştür. Katabolik kısımda MMP sentezi artmış ve TNF- α , IL-8, IL-17, IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin, ECM komponentlerinin ve MMP inhibitörlerinin sentezi azalmıştır (Şekil 2.6) (2).

2.5 TANI KRİTERLERİ

OA tanısı başlıca klinik ve radyografik olarak belirlenir ve radyografi görüntüleri hastalığın derecesini belirlemek altın standarttır. En yaygın olarak kullanılan tanı kriterleri Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) (2012) tarafından geliştirilmiştir (62). OA heterojen bir hastalık olduğu için farklı eklem bölgeleri için farklı tanı kriterleri geliştirilmiştir (9). Klinik kriterler, klinik çalışmalarda hastaların doğru sınıflandırılması için kullanılırken, radyolojik kriterler hastalığın tanı ve progresyonunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Yayınlanan çoğu raporda değerlendirme tanısı

için, Kellgren ve Lawrence tarafından geliştirilen 0-4 kademeli radyografik ölçekte, 2 veya daha yukarısı (belirli osteofitler ve olası eklem aralığında daralma) bir altın standart olarak kullanılmıştır (63, 64).

Önceden yapılan bir çok çalışma, etkilenen eklemin radyografik OA bulguları ile klinik semptomları arasında korelasyon olduğuna dair sonuçlar elde ederken (65, 66, 67), son zamanlarda farklı bölge ve büyüklükteki popülasyon çalışmaları bu iki bulgu arasında her zaman korelasyon olmadığını göstermiştir (68, 69).

2.6 SINIFLANDIRILMASI

OA'nın sınıflandırılması için etiyolojik sebebi ve eklem tutulumuna göre olmak üzere iki büyük sistem öne sürülmüştür (25).

A) Tutulan eklem göre sınıflandırma

- Monoartiküler, Oligoartiküler veya Poliartiküler (yaygın) tutulumlar
- Eklem içinde tutulum gösteren ana bölgeler:
 - Kalça (superior, medial, konsantrik),
 - Diz (medial, lateral, patellofemoral),
 - El (İnterfalangial eklemler, başparmak karpometakarpal eklem),
 - Vertebra (apofizer eklemler, intervertebral disk hastalığı),

B) Etiyolojiye göre sınıflandırma

1. Primer (İdyopatik) OA
2. Sekonder OA (Nedeni tespit edilebilenler)
 - a. **Metabolik nedenlere bağlı**
 1. Okronozis
 2. Akromegali
 3. Hemakromatozis
 4. Kristal depo hastalığı

b. Anatomik nedenlere bağlı

1. Femoralepifiz kayması
2. Epifiziyaldisplaziler
3. Blount hastalığı
4. Legg-Calve-Perthes hastalığı
5. Kalçanın konjenitaldislokasyonu
6. Bacak boyu eşitsizliği
7. Hipermobilitessendromları

c. Travmatik nedenlere bağlı

1. Major eklem travması
2. Eklem fraktürü veya osteonekroz
3. Eklem operasyonu
4. Kronik hasar (iş ve uğraşıya bağlı artropatileri)

d. İnflamatuvar nedenlere bağlı

1. İnflamatuvarartritler
2. Septik artrit

Bunun haricinde spesifik özelliklerine göre de sınıflandırma yapılabilmektedir (25).

C. Spesifik özelliklerine göre

- a. İnflamatuvar OA
- b. Eroziv OA
- c. Atrofik veya destrüktif OA
- d. Kondrokalsinozis ile birlikte olan OA
- e. Diğerleri

2.7 DİZ OSTEOARTRİTİ

Osteoartrit dünya genelinde yetişkinlerde en sık rastlanan eklem hastalığıdır. Diz osteoartriti en sık görülen (bütün yetişkinlerin %6 sı) tipidir. Diz OA özellikle yaşlı insanlar arasında çoğu ölümle sonuçlanan sakatlanmaların en yaygın sebebidir. OA gelişimi gibi diz OA da yaşla birlikte artar. Primer diz OA, bilinen herhangi bir başlatan faktör olmadan gerçekleşir. Diz OA tanısı Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) tarafından belirlenen kriterlere göre koyulur (62). Eklem kıkırdağında görülen yumuşama, yarıлма ve fibrilasyon ile subkondral kemik sklerozu, kist ve osteofitler OA'ya işaret eden başlıca makroskobik bulgulardır (70). Epidemiyolojik çalışmalar diz osteoartrit de endojen ve eksojen risk faktörlerinin etkili olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 2.1) (71).

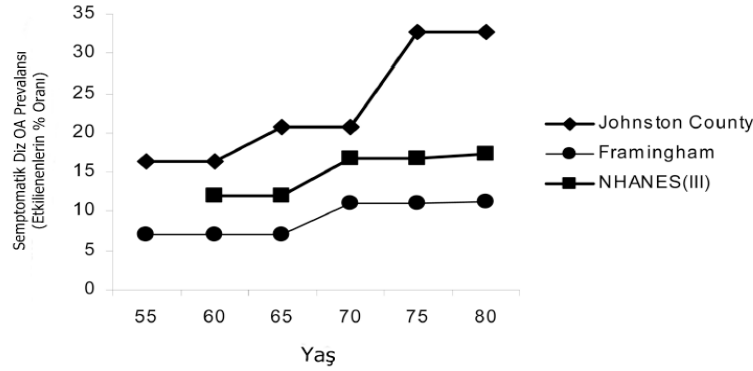
Diz OA prevalansı 70 ve 74 yaşları arasında %40'lara varacak oranda artar. Klinik işaretler ve semptomlar baz alınarak yapılan teşhiste bu oran %10'a düşmektedir. Amerikada son zamanlarda yapılan bir çalışmaya göre 2005 yılında 27 milyon kişiyi etkileyen OA'nın son 10 yıl içinde % 29 arttığı belirtilmiştir (71).

Çizelge 2.1. Diz OA gelişiminde risk faktörleri (71).

Endojen	Eksojen
Yaş	Makro travma
Cinsiyet	Tekrarlayan mikro travma
Kalıtım	Fazla kilo
Etnik Köken	Rezekatif eklem operasyonu
Post-Menapozel Değişimler	Yaşam biçimi etkenleri (Alkol,Sigara...)

İngiltere Hindistan ve Çin'de diz OA görülme sıklığı kadınlarda erkeklere oranla daha fazladır (3). Diz OA'nın radyolojik bulgularına semptomlar eşlik etmeyebilir. Diz OA'sı radyolojik olarak gösterilmiş hastaların sadece %15'inde diz ağrısı şikayeti mevcuttur. Çalışmalar, 60 ve 64 yaşları arasındaki erkeklerde diz OA'nın sağ dizde (%23) sol dizden (%16,3) daha sık rastlandığını gösterirken, kadınlarda her iki dizde yaklaşık oranlarda (sağ dizde %24,2, sol dizde %24,7) bulunduğunu göstermiştir (71).

Çizelge 2.2. Farklı populasyon çalışmalarında Semptomatik Diz OA'nın yaşa bağımlı artışı (72).



Diz OA'nın yaşla birlikte artış gösterdiği populasyon tabanlı çalışmalarla da gösterilmiştir (Çizelge 2.2). Örneğin, Framingham osteoartrit çalışması, diz OA prevalansını 60 yaş ve üzeri 1420 kişide belirlemiştir (73). Johnson Country Osteoartrit Projesi, diz ve kalça OA'lı bireyler ile Kuzey Carolina'da yapılmış populasyon tabanlı bir çalışmadır. 1/3'ü Afrikalı Amerikan olan 3000 bireyle çalışılmıştır. Radyografik KL skoru 2 ve üzerinde diz OA'sı olan ve semptomatik OA'lı bireylerin dahil edildiği çalışmada, diz OA prevalansı araştırılırken, 56-64 yaşları arasındaki bireylerin %26.2'sinde ve 75 yaş ve üzeri bireylerin yarısında görüldüğü tespit edilmiştir. Aynı grupta semptomatik OA %16.3 ve %32.8 civarında bulunmuştur (73). Ayrıca, yeni bir Framingham osteoartrit çalışması son 20 yıl içinde, semptomatik diz OA'nın oranında iki ya da üç kat bir artış olduğunu belirtilmiştir (70).

Populasyon düzeyinde yapılan bazı ikiz çalışmaları incelendiğinde, kadınlardaki diz ve kalça OA varyasyonlarının %39-65'nin genetik faktörlerin etkisiyle geliştiğini göstermiştir. Son zamanlarda, manyetik rezonans (MR) görüntüleme sonuçları baz

alınarak kadınlardaki diz kıkırdak volümünün yüksek oranda (%61-76) kalıtıldığı belirtilmiştir. Diğer populasyon çalışmaları, hastalığa genetiğin belirgin bir katkısı olduğunu gösterirken, farklı eklem bölgelerinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında diz OA'nın genetik etmenler ile ilişkisinin bulunmasında başarısız olmuştur. Sebebi ise henüz açıklanamamıştır (10).

2.8 OSTEOARTRİTİN GENETİK YÖNÜ

Osteoartrit genetik ve çevresel faktörler ile şekillenebilen multifaktöriyel bir hastalıktır. OA'da genetik yatkınlığın kanıtı ilk olarak 1940'larda rapor edilmiştir (74). Aile öyküsü ya da ailesel yığılım çalışmaları gibi epidemiyolojik çalışmalar, evlat edinme çalışmaları, ikiz çalışmaları, bağlantı analizleri, aday gen çalışmaları ve kondrodisplazi gibi nadir görülen genetik düzensizliklerin OA ile ilişkisinin keşfi, bu konuda kaynak olarak kullanılan araştırmalardır (13, 75, 76).

Bu konuda ilk çalışma 1941'de Stecher tarafından yapılmıştır (74). Devam eden çalışmalarda araştırmacılar eldeki osteoartritik parmakta bulunan Heberden nodüllerinin genel populasyonla kıyaslandığında ikiz çiftlerinde 3 kat daha fazla benzer olduğunu göstermiştir (77). Ayrıca bu lezyonların otozomal dominant karakterli ve kadınlarda prevalansının daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer bir aile çalışması 1960'da İngiltere'de genel osteoartrit semptomları olan bireylerle yapılmış ve bir önceki vaka ile benzer şekilde hastalık ile ikiz olmak arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (78). Daha sonraki çalışmalar ise Heberden ve Bouchards nodüllerinin aile bağlantısının varlığı ile ilişkisi olduğunu destekler niteliktedir (79, 80). İlk olarak en önemli genetik bozukluğun kollajen moleküllerini kodlayan genlerde olması beklenmiştir fakat Col2AI (tip-2 kollajen) genindeki polimorfizm osteoartritten çok kondradisplazi ile ilişkili bulunmuştur. Bazı tek nükleotid polimorfizmleri ise primer OA'nın küçük bir alt grubu ile ilişkili bulunmuş fakat bunun hafif kondradisplazisi ile direkt ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonucu olan çalışmalara dayanarak OA'nın tek gen hastalığı değil multifaktöriyel bir hastalık olduğu anlaşılmıştır (3).

OA ile ilişkili olarak yapılan ailesel yığılım çalışmaları sonucunda, hastalığın otoimmün artropatilerden daha düşük ve tip 2 diyabet gibi metabolik artropatilerden daha yüksek bir ailesel yığılım gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak ailesel yığılım durumunun yalnızca genetik faktörlerden kaynaklanmayacağı, benzer çevre koşullarına ortak maruziyet sonucu da gelişebileceği belirtilmiştir (75, 81).

Zhai G. ve ark.'larının (2007) yaptıkları ikiz çalışmasında, monozigotik ve dizigotik ikiz grupları arasında yaş, cinsiyet ve vücut kütle indeksi gibi diğer bilinen risk faktörleri için veriler eşitlendikten sonra OA'nın kalıtsallığı hesaplanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda radyografik osteofitler, eklem aralığındaki daralma, Heberden nodülleri ve diz ağrısı arasındaki korelasyonların monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (81, 82). Bu bulgular kadınlarda, bilinen çevresel veya demografik faktörlerden bağımsız olarak, genetik faktörlerin radyografik kalça OA da %60, diz OA da ise %39 etkili olduğunu göstermiştir. İkiz çalışmaları ve ailesel yığılım çalışmalarının diğer bir çalışma odağı da kıkırdak hacmi ve hastalığın progresyonuna genetik katkının araştırılmasıdır (75).

Bunun yanı sıra genetik temele sahip bir dizi nadir hastalık erken başlayan OA ile kesin olarak ilişkili bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda, çoğu otozomal dominant olarak kalıtılan ailesel kalsiyum pirosfat depozisyonu (KPD), hidrokalsiyatit artrit, Stickler sendromu, kondrodisplazi, epifiziyal displazi, multiple epifiziyal displazi ve Kniest displazi gibi genetik düzensizlik kaynaklı hastalıkların, çeşitli dejeneratif ailesel OA tipleri ile birlikte seyrettiği tespit edilmiştir (83).

Bugüne kadar İngiltere, Finlandiya, İzlanda, ve Amerika Birleşik Devletleri'nde kalça, diz, veya el OA tespit edilmiş hastalarda yapılan, küçük aile ya da ikiz çalışmalarına dayalı genom bağlantı analizleri sonucunda 2, 4, 6, 7, 11, 16, 19 ve X kromozomları üzerinde OA yatkınlığı barındıran birçok geniş genomik aralık belirlemiştir (84-89). Son zamanlarda gerçekleştirilen bir OA meta-analiz çalışmasında ise 893 ailede 3000 etkilenen bireye tüm genom taraması yapılmış ve yapılan çalışmanın sonucuna dayanarak büyük olasılıkla 7q34-7q36.3, 11p12-11q13.4, 6p21.1-6q15, 2q31.1-2q34 ve 15q21.3-15q26.1 gibi kromozom bölgelerinin OA yatkınlık genlerini bulundurabileceği sonucuna varılmıştır (Çizelge 2.3) (86).

Çizelge 2.3. Genomik bağlantı analizi sonucu osteoartriti ile ilişkilendirilen kromozom bölgeleri (13).

Kromozom	Sitogenetik lokasyon	Bölgede bulunan genler	Bağlantı çalışması	Bağlantılı vaka
1	1p32–p22	-	ABD	EI OA
2	2q12–2q21	IL1	Finlandiya	EI/Diz/ Kalça OA
	2q31.1–2q34	FRZB	İngiltere	Kalça OA
	2p23.2–2p16.2	MATN3	İzlanda/ ABD	EI OA
3	3p22.2–3p14.1	-	İzlanda	EI OA
4	4q26–4q32.1	-	Finlandiya, İzlanda	EI OA
6	6p21.1–6q15	BMP5, HLA	İngiltere	Kalça OA
7	7q34–7q36.3	-	ABD	EI OA
	7p15–7p21	-	Finlandiya	EI OA
11	11p12–11q13.4	LRP5	İngiltere	Kalça OA
13	13q33.1–13q34	-	ABD	EI OA
15	15q21.3–15q26.1	-	ABD	EI OA
16	16p13.1–16q12.1	IL4R	İngiltere/ İzlanda	Kalça OA
	16q22.1–q23.1	-	İngiltere	Diz OA/ Kalça OA
19	19q13	-	ABD, İngiltere	EI OA
X	X cen	-	Finlandiya	EI OA

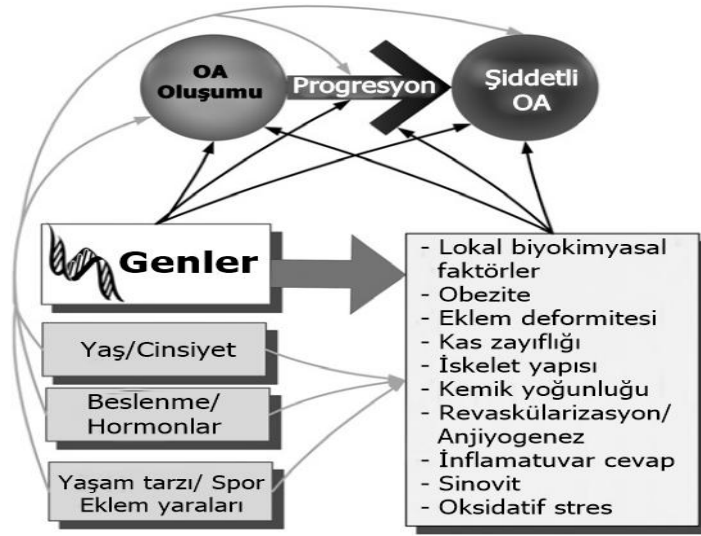
OA ile ilişkili yapılan ilk büyük genom genişliği ilişkilendirme çalışmasında diz OA'lı hastalarda 500000 marker taranmış fakat belirlenen varyantlardan anlamlı sonuç elde edilememiştir (91). Daha sonra Japon bir grup, 94 diz OA'lı hasta ve 658 kontrolde 80000 e yakın marker kullanarak ve ikinci bir çalışma olarak da 646 diz OA'lı hastada ve 631 kontrolde 2153 single nucleotid polymorphism (SNP) tarayarak bir çalışma yapmışlardır. Sonuç olarak double von Willebrand factor A (DWVA) gen lokusunda kodlanan 2 varyant (rs11718863 ve rs7639618) ile güçlü bir bağlantı ($OR=1.43$, $P<7\times 10^{-11}$) bulmuşlardır. Bu iki SNP'nin ayrıca DWVA proteininin β -tübülin proteinine bağlanmada da etkili olduğunu göstermiştir ve araştırmacılar tübülin ve mikrotübüllerin, osteoartrit patogenezinde koruyucu bir faktör olduğunu ileri sürmüşlerdir (92). Daha sonra yapılan çalışmalarda bu iki SNP'nin beyaz ırk (İngiltere ve Avrupa) üzerinde yapılan çalışmalarda diz ve kalça OA üzerinde bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar OA da genetik risk açısından iki popülasyon arasında heterojenite olduğunu göstermiştir (93,93,95).

Osteoartrit gelişimi ve patogenezinde etkili olabilecek aday genlerin belirlenmesi için benzer çalışmalar, farklı populasyonlarda ve farklı markerlar ile meta-analiz çalışmalarıyla da desteklenerek devam etmektedir (75,76,96,97).

2.8.1 Aday Genler

Osteoartritin kalıtsal bir hastalık olduğuna dair bulgular hangi genlerin sorumlu olduğu sorusunu ortaya çıkarmıştır. Osteoartrit, eklem kıkırdağının ilerleyen kaybıyla karakterize edilen bir hastalık olduğu için aday gen araştırmalarında, genom çapında ilişkilendirme ve bağlantı analiz çalışmalarının da sonuçlarından yararlanılarak, özellikle eklem ve kemikte bulunan yapısal protein genleri, ekstrasellüler matriks bileşenlerine ait genler ya da yapısal olmayan proteinlere ait genler üzerine odaklanılmıştır (1,13,83,98). Bunun yanı sıra, bireylerde OA için risk faktörü oluşturan lokal biyokimyasal faktörler, obezite, eklem deformitesi, iskelet ve kas formasyonu, kemik yoğunluğu, sinovit, inflamatuvar yanıt, oksidatif stres gibi etkenler kalıtsal olarak şekillenen özellikler olduğu için OA yatkınlığı veya progresyonunun araştırılmasında aday gen bulundurabilecek yolları teşkil ederler (Şekil 2.7) (13).

Hastalığın kalıtımı üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen ipuçları, hayvan modellerindeki iskelet düzensizliklerinden yola çıkarak bir kısmının tek-gen defektlerinden kaynaklandığını (99, 100), daha nadir görülen ailesel OA'nın ise kollajen ve diğer yapısal genlerden kaynaklandığını göstermektedir (101, 102). Yapılan çalışmalarda, OA bulunan bazı ailelerde COL2A1 geninde mutasyon olduğu rapor edilirken (103, 104) bazılarında OA'lı ailelerde bu genin hastalık lokusu olmadığı belirtilmiştir (105, 106). Bu tip tamamen ailesel hastalıklar nadirdir ve az sayıdaki ailesel çalışma sonuçları hastalığa genetik katkının ortaya koyulması için yeterli değildir (76).



Şekil 2.7. Genlerin OA üzerine etki mekanizması (13).

Erken aday gen çalışmaları COL2A1 gibi kırıkdağın komponentleri üzerine odaklanmıştır. COL2A1 eklem kırıkdağının başlıca kollajenöz komponenti olan tip-2 kollajenin alfa-1 polipeptit zincirini kodlar. COL2A1 gen bölgesinde meydana gelen mutasyonlar genellikle bazı kondroplazi formları ile ilişkili bulunduğu için bu vakalarda genel OA olabileceği rapor edilmiştir. Akraba olmayan ailelerde yapılan bir çalışmada ise COL2A1 gen bölgesinde, 19. arjininin sisteine ve 75. arjininin sisteine dönüşümüne neden olan iki mutasyonun erken OA, genel OA ve kondroplazi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (13, 83). Bunun yanısıra tip IV, V ve VI kollajen, eklem oligometrik protein (COMP) gibi eklemde eksprese olan diğer genlerde meydana gelen nokta mutasyonların OA'nın kalıtılan formlarının sebebi olabileceği belirtilmiştir (1).

Bugüne kadar yayınlanmış derleme çalışmaları üzerine yapılan bir incelemede 80'den fazla aday gen ortaya konduğu tespit edilmiştir (98). Bağlantı çalışmaları 2q, 4q, 6q, 9q, 11q ve 16p kromozom bölgeleri üzerinde yer alan kantitatif özellik lokuslarını (QTL) ortaya çıkarmıştır. Bu kromozomlar üzerindeki, extrasellüler matrikste bulunan bir glikoprotein olan fibronektin, kemiğin önemli bir bileşeni olan tip V kollajenin 2-

alfa zinciri, 2. kromozomun 2q23-25 bölgesinde yer alan ve nötrofil aktivasyonu ile kemotaksi regülasyonu için önemli olan interlökin-8 reseptör proteini ve 11. kromozomun q kolu üzerinde kümelenmiş MMP genleri, Cartilage Matrix Protein (CRTM) (martilin-1), Agrekan (AGC1), Cartilage Link Protein (CLTP)-1, Vitamin D Reseptör (VDR) protein, Estrogen Reseptör (ER) Protein ve Insulin Growth Factor (IGF)-1 genleri OA için aday gen olarak gösterilmiştir (76, 107). Yapısal olmayan proteinler arasında belirtilen aday genlerde ise, frezzled-related protein 3 (FRZB 3), Asporin (ASP) ve Double von Willebrand faktör (DWVA), Growth Differentiation Factor (GDF)-5, Transforming Growth Factor (TGF)- β bağlanma proteini 3 genleri çalışılmıştır (Çizelge 2.4) (1).

Çizelge 2.4. Osteoartrit ile genetik bağlantısı bulunan bazı genler (13).

Sembol	Gen Adı	Bağlantılı vaka	Bilinen ya da Varsayılan Fonksiyonu
AACT	(Alpha-1 antiproteinase, antitripsin) Alfa 1 antiproteinaz, antitripsin	Diz OA	Kıkırdak proteoglikan degradasyonunda görevli serin proteinazın doğal inhibitörü
ADAM12	A Disintegrin And Metalloproteinase (Bir Disintegrin ve Metalloproteinaz)	Diz OA	Osteoklast formasyonu ve hücre-hücre füzyonunda görevli metalloproteinazlar
ASPN	Asporin	Kalça OA, Diz OA	TGF- β büyüme faktörünün aktivitesini düzenleyen ekstraselüler kıkırdak ekstraselüler proteini
BMP2	Bone Morphogenic Protein 2 (Kemik morfojenetik protein 2)	Diz OA	Osteogenez ve kondrojenizde görevli
BMP5	Bone Morphogenic Protein 5 (Kemik morfojenetik protein 5)	Kalça OA	Artiküler kondrosit gelişimi regülasyonu
CALM1	Calmodulin 1 (Kalmodulin 1)	Kalça OA	Sinyal transdüksiyonunda gerekli proteinlerle etkileşen intraselüler protein
CILP	Cartilage Intermediate Layer Protein (Kıkırdak ara tabaka protein)	Diz OA, LDD	Kıkırdak matris genlerinin TGF- β 1-aracılı indüksiyonunun inhibisyonu
COL2A1	(Collagen, type II, alpha 1) Tip II kollajen	Diz OA	Majör kıkırdak kollajen, yapısal kıkırdak komponenti
COMP	Cartilage oligomeric matris protein (Kıkırdak oligomerik matris protein)	Diz OA	Kıkırdak matris makromolekül
COX2(PG2S)	Prostaglandin	Diz OA, Omurga OA	OA'da COX-2-salınımli PGE(2) aracılı kartilajproteoglikan degradasyonu
DIO2	Iodotreonin deiodinaz enzyme type 2 (Iyodotreonin deiodinaz enzim tip 2)	Kalça OA, GOA	Hedef dokuda aktif tiroid hormon düzeyinin intraselüler regülasyonu
ESR1	Estrogen receptor alfa (Östrojen reseptör alfa)	Diz OA, GOA	Kondrositlerde, proteoglikan degradasyonu düzenlenmesi ve matris metalloproteinase mRNA ekspresyonu
FRZB	Secreted frizzled-related protein (Salınmış frizzled-ilişkili protein 3)	Kalça/diz OA, GOA	Wnt antagonisti ve kondrositlerin olgunlaşma prosesinin düzenlenmesi

Çizelge 2.4. Osteoartrit ile genetik bağlantısı bulunan bazı genler (devamı) (13).

Sembol	Gen Adı	Bağlantılı vaka	Bilinen yada Varsayılan Fonksiyonu
GDF5	Growth and Differentiation Factor 5 (Büyüme farklılaşma faktörü 5)	Kalça OA	Kemik morfojenetik aile üyesi, büyüme ve farklılaşma regülasyonu
HLA	Human leukocyte antigen system (İnsan lökosit antijen sistemi)	El/kalça/diz OA, GOA	Antijen sunumu ve immün yanıt spesifitesinde HLA/antijen kompleksinin T-hücre reseptörüne bağlanması
IL-1 gen grubu	Interleukin-1 alpha, beta and interleukin 1 receptor antagonist (İnterlökin-1 alfa, beta ve interlökin 1 reseptör antagonist)	Kalça/diz OA	Sinoviyum ve kondrositlerde metalloproteaz gen ekspresyonunun düzenlenmesi
IL-4R	İnterlökin-4 reseptör	Kalça OA	Kıkırdak kondrositinde mekanik sinyallere cevap oluşumunda
IL-6	İnterlökin 6	Kalça/Diz OA	ILR-a indüklü kıkırdak degradasyonunda gerekli proinflamatuvar yanıt
IL-10	İnterlökin 10	Diz/El OA	Anti-inflamatör sitokinlerin IL-1 sentezini inhibe etmesi
LRCH1	Leucine-Rich Repeats And Calponin Homology (CH) 1 (Lösin-zengin tekrarlar ve kalponin homoloji (CH) 1)	Kalça/Diz OA	Bilinmiyor
LRP5	Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 5 (Düşük dansiteli lipoprotein reseptör-ilişkili protein 5)	Diz OA	Beta-katenin yolağıyla Wnt sinyal iletiminde rol alan reseptör
MATN3	Matrilin 3	El OA, Omurga OA	Ekstraselüler matriks makromolekülü
OPG	Osteoprotegerin	Diz OA	Osteoklastogenezin düzenlenmesi
RHOB	Ras Homolog Family Member B Ras homolog gen ailes üyesi B	Kalça OA, Diz OA	GTPaz ile tümör süpresör aktivitesi (PI3K/Akt yolağının antagonisti)
TXNDC3	Thioredoxin Domain Containing 3 (Tioredoksin içerikli domain 3)	Diz OA	Redoks aracılı reaksiyonlarla bazı hücrel proselerde protein disülfidredüktaz katılımı
TNA	Tetranektin	Diz OA	Plasminojen-bağlı protein, ekstraselüler matriks degradasyonunun düzenlenmesi
VDR1	Vitamin D receptor (Vitamin D reseptör)	Diz OA	OA progresyanunda serum düzeyini etkileyen nükleer reseptör

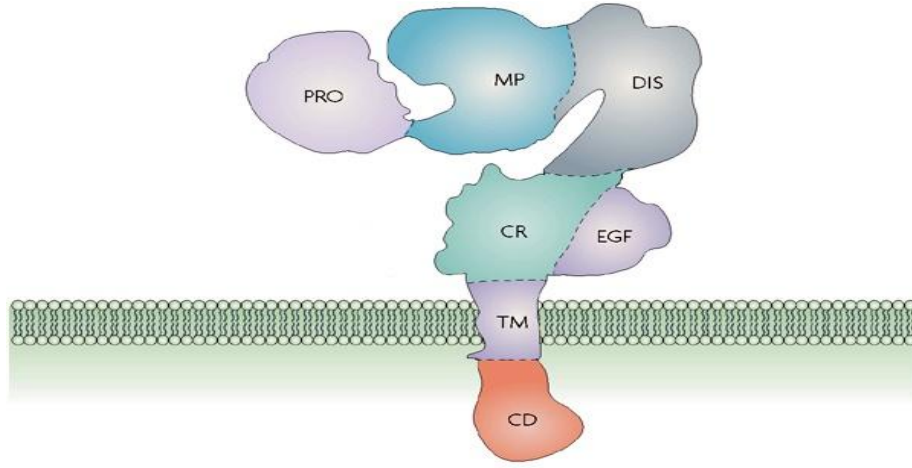
2.8.1.1 A Disintegrin And Metalloproteinase 12 (ADAM12)

Ekstrasellüler matriksin (ECM) proteolitik prosesinde görev alan çok sayıda protein ailesi, alt birim yapılarına göre gruplandırılmıştır. Bunların iki büyük grubunu serin proteazlar (trombin, doku plazminojen aktivatörü, urokinaz ve plazmini gibi...) ve 23 üyeden oluşan yüksek oranda korunmuş Zn-bağımlı endopeptidaz olan Matriks Metalloproteinazlar (MMP) teşkil eder. Bu iki büyük grubun ECM yıkımında ve kanser metastazında önemli rolleri vardır. Üçüncü grup tolloid ailesi metalloproteinazları iken son grup hücre-hücre adezyonu ve proteolizde görevli, transmembran bir glikoprotein olan ADAM veya Metalloproteaz/Disintegrin/Sistein (MDC)'lerdir (108). Bunlara ek olarak tendon ve diğer bağ dokularındaki ECM kompozisyonunun regülasyonunda A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs (ADAMTS) ve Tissue Inhibitor Metalloproteinase (TIMP) aileleri de görevlidir (109).

ADAM ailesi üyeleri, trans-membran, çinko-bağımlı metalloproteazlar olup, diğer işlevsel kısımlarını oluşturan bir disintegrin bulundurlar. Bu yapılarıyla adezyon proteinlerinin ve proteinazların özelliklerini bir arada taşıırken, hücre-hücre etkileşimleri ve hücre matriks etkileşimlerinde önemli rol oynarlar (108). Ayrıca bu moleküllerin büyüme faktörü salınımı, hücre adezyonu ve füzyonu, inflamasyon ve immün reaksiyonlarda rol aldığı gösterilmiştir (109). ADAM12 malignan tümör ve plasenta gibi yeniden düzenlenmenin ve gelişimin hızlı olduğu dokularda yüksek düzeyde ifade edilen aktif bir proteindir (18). Bugüne kadar hücre-hücre interaksyonu, fertilizasyon veya kas gelişimi gibi çeşitli fonksiyonlara sahip yaklaşık 30 tane ADAM ailesine ait protein ve 19 farklı gen tanımlanmıştır (108,109).

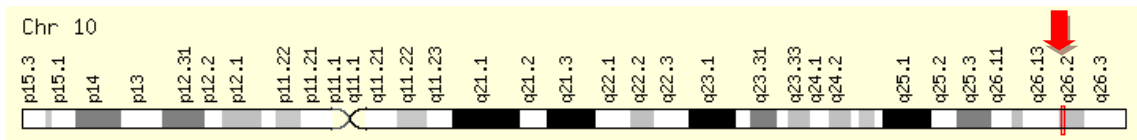
ADAM12 birbirine eklenen iki varyant olarak eksprese edilir; transmembran ADAM12-L (uzun form) ve salgılanan ADAM12-S (kısa form). ADAM12-L prototipi ekstrasellüler prodomain (P), katalitik (C), disintegrin (D), sisteince zengin (CR) ve Epidermal Growth Factor (EGF) benzeri 5 bölge, sınıf 1 transmembran bölge ve bir sitoplazmik kuyruktan oluşturacak şekilde düzenlenir. ADAM12-S 5 ekstrasellüler bölge ve C terminal ucunda 33 amino asitlik bir kuyruk bulundurur. Bu iki varyant furin-benzeri bir proteaz ile prodomain ve katalitik domainin arasından işlenir ve olgunlaşır. Daha sonra ekstrasellüler boşluğa ya da plazma membranına transloke olur.

ADAM12 aktif bir metalloproteazdır, IGFBP-3 ve -5 tarafından bölünür ve pro-EGF ektodomaininin salınımına aracılık eder. ADAM12'nin metalloproteaz aktivitesinden katalitik domain sorumludur ve üç tane çinko bağımlı histidin ile korunmuş HEXXHXXGXXH motifi içerisinde katalitik bir glutamik asit içerir (Şekil 2.8) (110).



Şekil 2.8. Transmembran ADAM proteinlerinin genel moleküler yapısı . PRO; intrasellüler trafiğin kontrol edilmesinde rol oynayan amino-teminal propeptit, MP; metalloproteinaz domain, DIS; katalitik aktivitesi için üç tane karboksil uç bulunduran disintegrin domain, CR; genellikle EGF ile ilişkili disülfid bağları bulunduran sisteince zengin bölge, TM; transmembran domain, CD; sitoplazmik domain (111).

ADAM12 geni 376,178 baz çifti uzunluğunda, 24 ekzona sahip, anlamlı zincir üzerinde, 10q26 bölgesine lokalize olarak bulunur (Şekil 2.9.) (112,113).



Şekil 2.9: ADAM12 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu (114).

Yapılan çalışmalarda ADAM12'nin OA patogenezi ile ilişkisi olduğu saptanmıştır. ADAM12 gen polimorfizmi diz OA gelişimi ve progresyonu ile ilişkili bulunmuştur fakat farklı populasyon çalışmaları bu bilgiyi destekler nitelikte değildir. Şimdiye kadar ADAM12'nin OA yatkınlığı üzerindeki etkisini araştırmak için fonksiyonel bir çalışma veya meta-analiz çalışması yapılmamıştır (115).

Osteoartritlik eklemden diğer ADAM genlerinden farklı olarak, ADAM12 fazla miktarda eksprese edildiği ve insülin benzeri IGF-BP-5 degradasyonu ile IGF-I aracılı kondrosit proliferasyonunu arttırdığı belirlenmiştir (110).

2.8.1.2 Growth and Differentiation Factor 5 (GDF5)

Cartilage Derived Morphogenetic Protein 1 (CDMP1) olarak da bilinen GDF5, bir TGF- β süper ailesi üyesi olup, Bone Morphogenetic Protein (BMP) alt familyası ile ilişkilidir (116).

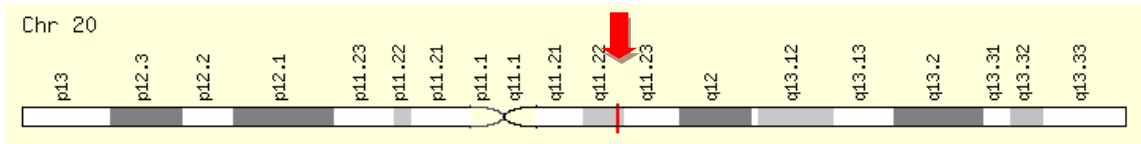
TGF- β süper ailesi, serin/treonin kinaz reseptörlerine bağlandıklarında yanıt oluşturan, fonksiyonel olarak farklı büyüme faktörleri ve sinyallerden oluşurlar. Proteinlerin herbiri polibazik proteolitik proses bölgesi ile 7 korunmuş sistein rezidüsünü içeren bir C-terminal bölgeden oluşur. 2 ekzon içermekle birlikte insan kromozomal 20q11.2 bölgesinde lokalizedir. Bu genler BMP'lerle yakından ilişkilidir (117).

BMP familyası TGF- β süperfamilyasının bir kısmını oluşturur. BMP familyasına ait proteinler yapısal benzerliklerine göre 3 alt gruba ayrılırlar;

- 1) BMP-2 ve BMP-4,
- 2) BMP-5, BMP-6/Vgr1, Osteojenik Protein (OP)-1/BMP-7,
- 3) GDF-5, GDF-6, GDF-7.

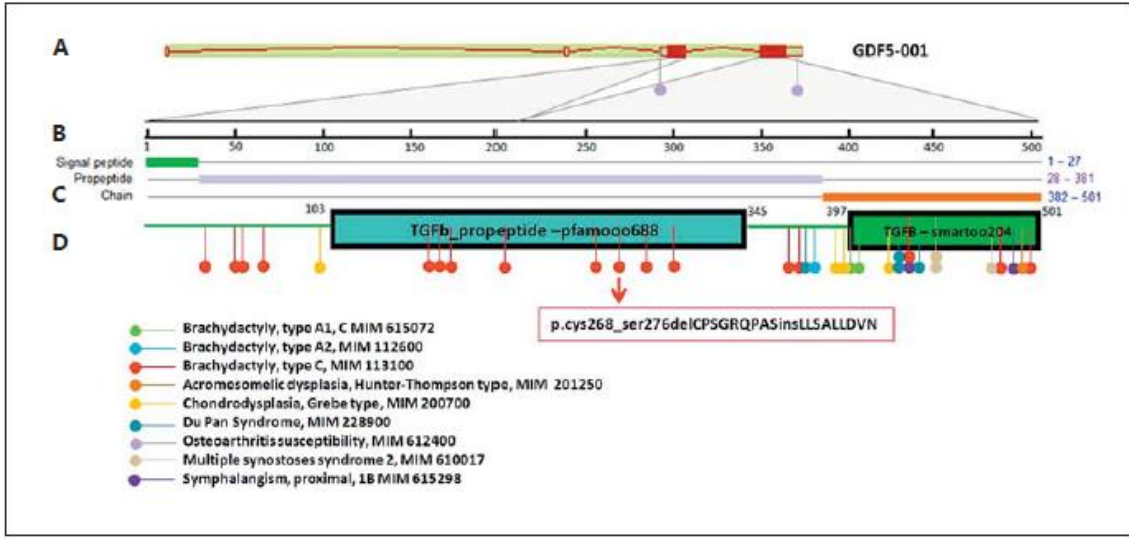
BMP proteinlerinin in vivo ektopik kemik ve kıkırdak oluşumunu indüklediği belirlenmiştir. İn vivo olarak yapılan diğer çalışmalar BMP'lerin kondroblastlarda proteoglikan sentezinin stimülasyonu, kondrojenik ve osteojenik farklılaşmada kollajen ve alkalın fosfataz sentezi ve nöral hücrelerde farklılaşmanın indüklenmesi gibi farklı hücre tiplerinde farklı biyolojik görevlere sahip olduğunu göstermiştir (118).

GDF5 geni 21,424 baz çifti uzunluğunda, 4 ekzona sahip, anlamlı zincir üzerinde ve 20q11.2 kromozom bölgesine lokalize olarak bulunur (Şekil 2.10.) (119,120).



Şekil 2.10. GDF5 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu (121).

BMP ailesi üyesi olan GDF-5, in vivo kemik ve kıkırdak oluşumunu, in vitro kondrojenik fenotip ekspresyonunu indükler. GDF-5/CDMP1 predominant olarak prekartilajenöz mezenşimal kondenzasyonda ve gelişmiş uzun kemiklerin kıkırdak çekirdeğinde eksprese olur. Fare GDF-5 genindeki mutasyonlar brakipodizm olarak bilinen anormal iskelet gelişimi ile sonuçlanmaktadır (118). GDF5 insan embriyosunda, uzun kemiklerdeki promordial kıkırdağın aktif degradasyon bölgesinde ve kemik matriks formasyonunda eksprese edilir fakat aksiyal iskelette eksprese olmamaktadır (Şekil 2.11.) (122).



Şekil 2.11: A. Ensembl veritabanında gösterilen insan GDF genine ait genomik düzen (<http://www.ensembl.org>) B. Amino asit baz çiftlerinden oluşan kodlayan bölgenin uzunluğu; ekzon 1 tarafından kodlanan 210 a.a. ve ekzon 2 tarafından kodlanan 291 a.a. C. Moleküler proselere göre insan GDF-5 proteinin bölgeleri (<http://www.uniprot.org/uniprot/P43026>) D. İnsan GDF-5 proteinin domaninleri (123).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, insan GDF-5 genindeki mutasyonların resesif kondroplaziyle ilişkili olduğunu göstermiştir (118). İnsanlarda GDF-5 mutasyonları apendiküler iskelette değişimlere neden olmaktadır. Ayrıca insanda, çeşitli kondraplazi tipleri, proksimal simfalanjizm ve brakidaktili tip C ve A gibi birçok iskelet sistemi hastalığı GDF5 mutasyonu ile ilişkili bulunmuştur (122,124).

2.8.1.3 Tissue Inhibitor Metalloproteinase 4 (TIMP4)

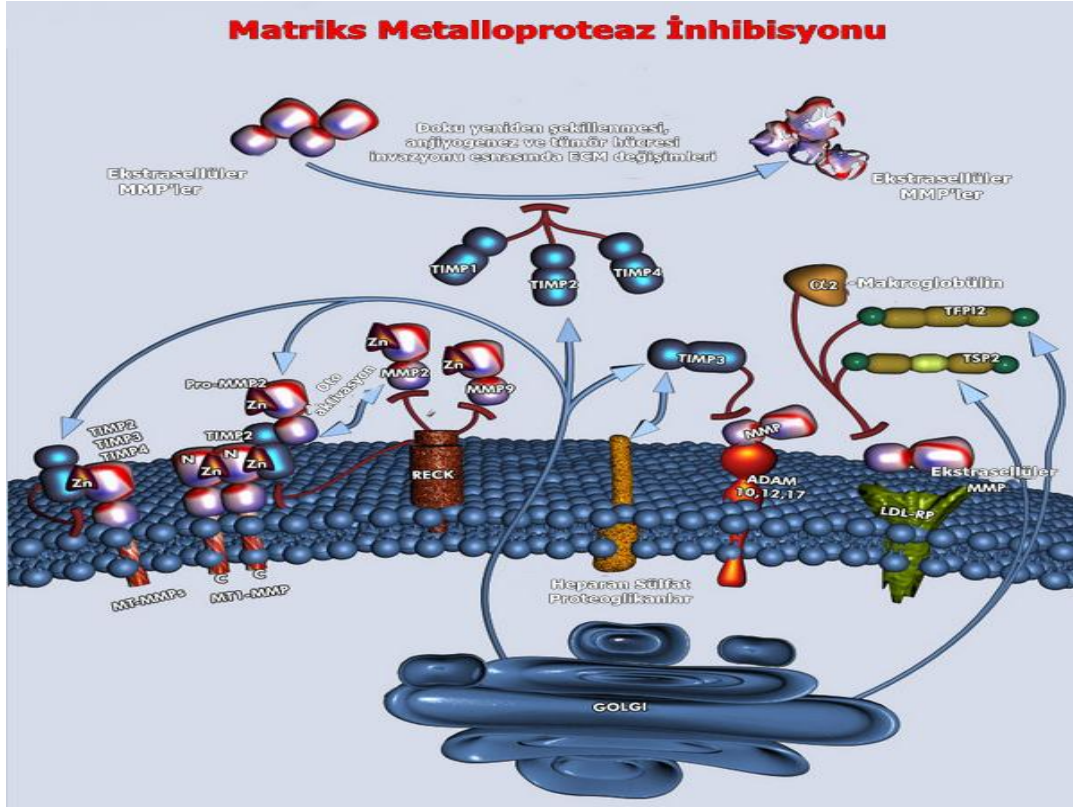
Eklem kıkırdağı kondrosit ve ekstrasellüler matriksten (ECM) oluşur. Tip II kollajen ve proteoglikan agrekanlar ekstrasellüler matriksin iki büyük komponentini oluşturur. Artrit hastalıkların genel endikasyonu olan kıkırdaktaki kollajen ve agrekanların degradasyonu, kondrositlerdeki MMP'lerin aşırı ekspresyonu ile sağlanır. MMP aktivitesi, TIMP olarak bilinen endojen doku inhibitörleri ile regüle edilir (125).

TIMP gen ailesi MMP inhibisyonu, anti-anjiyogenez, büyüme ve proliferasyonun indüklenmesi ve farklı sistemlerin proapoptotik aktivitesinde rol alan dört üyeden (TIMP1, -2, -3, -4) oluşur (126, 127). Doku yeniden şekillenmesi ve mevcut durumunun korunması sırasında ECM metabolizmasının dengesi TIMP ekspresyonu ile kontrol edilir. ECM dengesinin bozulması matris yeniden şekillendirilmesinin kontrolü ile ilişkili artrit, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nefrit, nörolojik düzensizlikler, doku ülserasyonu ve fibrozis gibi hastalıklara yol açar (21). TIMP-MMP/ADAMT dengesi kıkırdak bütünlüğünün sağlanmasında kritik bir öneme sahip olduğu için eklemlerdeki TIMP ailesinin ekspresyon ve regülasyonunun anlaşılması büyük öneme sahiptir (126,127).

TIMP4, TIMP gen ailesinin belirlenen en yeni üyesidir ve artritlerdeki doku zararlarında aktif olduğu bilinen MMP13 dahil MMP'lerin büyük bir çoğunluğunun inhibisyonunda, anjiyogenezi engellemeden endotelial hücrelerin migrasyonunda rol alır (125,126). TIMP4 ekspresyonu kalp, böbrek, pankreas, kolon, beyin ve adipöz dokularda kısıtlanmıştır. Bu durumun molekülün farklı ve spesifik fizyolojik fonksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (127).

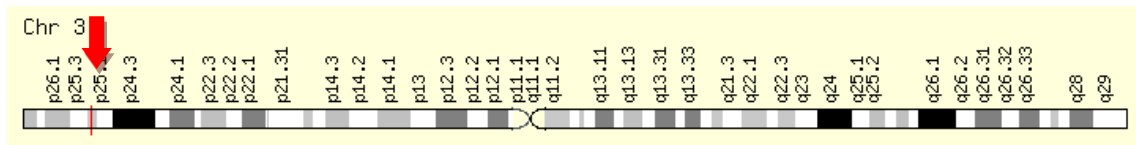
TIMP4, glikozile edilmemiş 195 amino asitten oluşan şimdiye kadar belirlenmiş en büyük matris metallo proteaz inhibitörüdür. TIMP ailesinden farklı olarak TIMP4 altı disülfid bağıyla korunan 12 sistein kalıntısı bulundurur. Üç boyutlu yapısı tam olarak belirlenmemiştir fakat diğer TIMP üyeleri ile yüksek sekans benzerliği olduğundan, özellikle TIMP2 ile olmak üzere, benzer yapıya sahip oldukları belirtilmektedir. TIMP protenleri belirgin iki domainden oluşur; MMP inhibitör aktivitesi taşıyan büyük bir N-terminal domain, diğer non-inhibitor interaksiyonların sağlandığı C-terminal domain. TIMP4 ve diğer TIMP üyeleri gerek sekans benzerliği açısından gerekse proteinin üç boyutlu yapısı bakımından birbirinden çok az moleküler bir farkla ayrıldıkları için inhibe ettikleri moleküller (pro-MMP2) büyük oranda aynıdır. Tek fark inhibisyonun şiddetidir (127).

TIMP2 sürekli olarak kondrositlerde eksprese olup, MMP-2 yi bağlayarak, membran tip MMP (MT-MMP)' leri inhibe eder. TIMP2'ye benzer olarak, TIM4 de güçlü bir şekilde MMP2' nin karboksil-homeopeksin domainine bağlanır ve MT-MMP-1 aktivitesiyle inhibisyonu sağlar (Şekil 2.12) (125).



Şekil 2.12. TIMP ailesi proteinlerinin MMP inhibisyonundaki rolü (128).

TIMP genleri ayrı kromozomlar üzerinde bulunur. TIMP4 geni 6,301 baz çifti uzunluğunda ve 5 ekzon bölgesine sahip, anlamlı zincir üzerinde ve 3p25 bölgesinde lokalize olarak bulunur (Şekil 2.13) (129).



Şekil 2.13. TIMP4 geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonu (130).

Farelerde TIMP4 gen terapisi artrit ve periodontiti azaltmıştır. Bu durum bu iki hastalık arasında bağlantı olabileceğini ve TIMP4'ün terapötik potansiyeli olduğunu akla getirmektedir (126).

TIMP4 mRNA düzeylerin OA sinoviyal membranında artmış durumdadır, bunun aşırı MMP aktivitesine bağlı yıkımı önlemek için olduğu düşünülmektedir. TIMP4 gen ekspresyonu diz kondrositlerinde artrit ile ilişkili sitokinlerle regüle edilir. TIMP4'ün TGF- β 1 ile indüklenmesi kıkırdak matriks sentezi için önemli bir stimülant ve sinoviyal fibroblastlar için antiapoptotik faktör olarak işlev görür. Bunun OA patogenezi sırasında kartilaj yeniden şekillenmesi ve tamirinde rol aldığı düşünülmektedir (126).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE TBB (NPÖ) 2014-4 YL kodlu proje ile desteklenen ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan; “ADAM12, GDF5 ve TIMP4 Gen Polimorfizmlerinin Diz Osteoartriti ile İlişkisi” başlıklı çalışmada, hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniği tarafından gerçekleştirildi. Moleküler biyolojik analizler ise Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı’nda yapıldı.

Çalışmada; hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden DNA izolasyonu için, 6-8 ml’lik venöz kan 1 ml % 2 ‘lik etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml’lik santrifüj tüplerine alındı. DNA izolasyonu yapılana kadar +4°C de saklandı. DNA eldesi Miller’in tuz çöktürme (131) ve DNA izolasyon kit (Invitrogen, Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02) yöntemlerine göre yapıldı. Elde edilen DNA’lardan GDF-5 geninin 5' UTR bölgesinde +104 A/G; rs143383, ADAM12 geninin ikinci eksonunda glisinine arjinine dönüşümüne neden olan G/C; rs3740199 ve TIMP-4 3. intron bölgesinde A/G; rs308952 polimorfizmlerine ait gen bölgelerinin çoğaltılması, genotiplendirilmesi ve analizleri “ABI Prism 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)” cihazı ve “SDS 2.0.3 software for allelic discrimination (Applied Biosystems)” programı kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

<i>Kullanılan Cihaz</i>	<i>Marka ve Modeli</i>
Real Time-PCR cihazı	Applied Biosystems-ABI Prism 7500 Real Time-PCR System
Mikrosantrifüj	Hermle, Z160M
Santrifüj	Nüve NF-800
Etüv	Nüve EN-500
Otoklav	Nüve OT 4060 V
Vorteks	VELP
Mikropipet Seti	Eppendorf
Elektromanyetik Karıştırıcı	Nüve MK-418
Derin Dondurucu	Arçelik-2031D
Buzdolabı	Arçelik-8188 NF

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

<i>Kullanılan Kimyasal Maddeler</i>	<i>Marka ve Modeli</i>
EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit)	Sigma E-5134
TrisHCL (Tris-Hidroklorid)	Sigma T-7149
SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)	Serva 20760
DNA izolasyon kiti	Invitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02
Absolute Etanol	Riedel-de Haen 32221
Proteinaz K	Sigma P2308-10MG
Steril distile su	Polifarma C-1411047
Amonyum asetat	AMRESCO MW 77.08
TaqMan Genotyping Master Mix	Applied Biosystems, 4371355, (400 reaksiyon)
TaqMan SNP Genotyping Assays	Applied Biosystems, 4351376, 40X

3.1.3. Çözeltiler

Çizelge 3.1. Manuel DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltiler

Manuel DNA İzolasyonunda Kullanılan Tampon Çözeltiler	
<u>Nüklei Lizis Buffer</u>	-Tris-HCl1.576 g -NaCl23.4 g -Na ₂ EDTA.....0.7 g Hazırlanışı: 1 litre distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda steril edilir ve +4°C’de saklanır.
<u>%10 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Çözeltisi</u>	-10 g SDS Hazırlanışı: 100 ml distile suda çözülür.
<u>10 M Amonyum Asetat Tampon Çözelti</u>	-148 g Amonyum Asetat Hazırlanışı: 200 ml distile suda çözülür.
<u>TE Buffer</u>	-Tris-HCl0.394 g -Na ₂ EDTA0.093 g Hazırlanışı: 250 ml distile suya tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda steril edilir ve +4°C’de saklanır.
<u>Proteinaz K (Sigma)</u>	- Liyofilize 100 mg proteinaz-K Hazırlanışı: 10 ml steril distile su ile çözülerek 10 mg/ml’lik konsantrasyona getirilir ve –20°C’de saklanır.

3.2 Hasta ve kontrol grubunun oluşturulması

Araştırmaya başlamadan önce yapılacak çalışmayla ilgili olarak Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniği'nde Amerikan Romatoloji Koleji kriterlerine göre diz osteoartriti tanısı alan 100 hasta birey ve kontrol grubu için hariç tutulma kriterlerine uygun 75 sağlıklı birey dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden çalışmaya dahil olmayı kabul ettiklerine dair, etik kurul tarafından belirtilen yönergelere uygun bir biçimde hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formu doldurtulup onayları alındı.

Çalışmaya dahil olmayı kabul eden her bireyden 6-8 ml periferik kan alınarak 1 ml, % 2'lik EDTA içeren santrifüj tüplerine konularak DNA eldesine kadar +4 °C'lik buzdolabında saklandı.

3.3 DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol bireylerine ait EDTA'lı tüplere alınmış periferik kandan manuel (Miller tuz çöktürme) (131) ve kit (Invitrogen, Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02) yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

3.3.1 Miller tuz çöktürme yöntemi

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden DNA izolasyonu için içerisinde 1 ml EDTA bulunan 15 ml'lik polipropilen santrifüj tüplerine alınan 7-8 ml periferik kanın bir kısmı, gerekli görüldüğü durumda kit ile izolasyon yapabilmek için ayrılıp aşağıdaki manuel DNA izolasyonu basamaklarına geçildi (131).

1. Gün Basamağı:

- 1) Periferik kan örnekleri, steril soğuk distile su ile 10 ml'ye tamamlandı ve 2-3 dk hızlı olarak çalkalandı.
- 2) Çalkalandıktan sonra 10 dk 2000 rpm'de santrifüjlenerak santrifügasyon sonrasında, süpernant kısımları transfer pipeti yardımıyla atıldı. Pellet üzerine steril soğuk distile su ilave edilerek 12 ml'ye tamamlandı.
- 3) Soğuk distile su eklenen tüpler tekrar hızlı olarak çalkalandı ve 10 dk 2000 rpm'de santrifüj edildi.
- 4) Supernatant kısım berrak bir görüntü alana kadar steril soğuk distile su ile yıkama işlemleri yaklaşık 4-5 kere tekrarlandı. Yıkama işlemi sonunda tüm eritrositlerin parçalanarak uzaklaşması sağlandı.
- 5) Supernatant kısım berraklaştıktan sonra, pelet üzerine 3 ml nüklei lizis tampon eklendi.
- 6) Nüklei lizis tampon eklenen tüpler yaklaşık 15-20 defa çalkalandı.
- 7) Tüplere 200 µl % 10'luk SDS ve 150 µl proteinaz-K eklenerek yavaşça çalkalandı.
- 8) Bir gece 37°C'de etüvde inkübe edildi.

2. Gün Basamağı:

- 1) İnkübasyon sonrası alınan tüpler 55 °C'de 1 saat bekletildi.
- 2) Tüplere 2 ml, 6 M amonyum asetat eklendi ve karıştırıldıktan sonra 10 dk oda ısısında bekletildi.
- 3) Tüpler 15 dk 3500 rpm'de santrifüjlendi.
- 4) Supernatant transfer pipetiyle yeni bir tüpe alındı ve üzerini tamamlayacak şekilde, soğuk absolü etanol (%99,8) eklenerek, DNA'nın yoğunlaşması sağlandı.
- 5) Absolü etanol içinde; yoğunlaşmış görülebilir hale gelen DNA mikropipet yardımıyla, dikkatlice mikropipet ucuna sarılacak şekilde alınarak daha önce 500 µl steril distile su konulan ependorf tüplere aktarıldı. 37°C'lik etüvde bir gece bekletilerek, DNA'ların çözünüp homojen hale gelmesi sağlandı. Moleküler analize kadar 4°C'de saklandı.

3.3.2 Kit yöntemi

- 1) 200 µl periferik kan alınıp 1.5'lik ependorf tüplere, mikropipet yardımıyla aktarıldı.
- 2) 20 µl proteinaz K ve lizis buffer, 200 µl periferik kanın bulunduğu tüpe eklenerek, 10-20 sn. hızlıca vortekslendi.
- 3) 55 °C'lik etüvde 10 dk. inkübe edildi.
- 4) Örnekler etüvden çıkarıldıktan sonra 200 µl absöü etanol eklenerek hızlıca vortekslendi.
- 5) 1,5'lik tüplerdeki örnekler mikropipet yardımıyla filtreli tüplere aktarılarak, mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
- 6) Santrifüjden çıkarılan filtreli tüplerin toplama tüpleri atılarak yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Örneklerin üzerine mikropipet yardımıyla 500 µl WB I (wash buffer I) eklendi. Mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
- 7) Santrifüjden çıkarılan filtreli tüplerin toplama tüpleri atılarak tekrar yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Örnekler üzerine 500 µl WB II (wash buffer II) solüsyonu eklenerek mikrosantrifüjde 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
- 8) Santrifüj sonrasında filtreli tüpler yeni 1,5'lik ependorf tüplerine koyuldu ve toplama tüpleri atıldı. Filtreli tüplere örnek başına 100-200µl EB (elution buffer) eklenerek, örnekler 11000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi.
- 9) Santrifüj sonrasında DNA örneği filtreli tüpten ependorf tüpe birikerek DNA örneği elde edildi. Moleküler analize kadar 4°C'de saklandı.

3.4 Genotiplerin Belirlenmesi

Elde edilen DNA'lardan ADAM12 G/C; rs3740199, GDF-5 T/C; rs143383 ve TIMP-4 A/G; rs308952 polimorfizmleri, "Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays" kullanılarak Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle belirlendi.

3.4.1 SNP Özellikleri

Çizelge 3.2. *ADAM12* genine ait rs3740199 özellikleri (132).

Genin Adı SNP rs No	ADAM12 – rs3740199
Varyant (M>m)	2. ekson → G>C
Çoğaltılan Sekans	ACTGGGATCCAGAGGTCCCCACTCC[G/C]AACAGAGGC ACTGACAACCTTCATCA
Gen Lokalizasyonu	CCCTGGGCTTATTTAACTTCCAAATATTTTCACTGTGTC ATTTATGTAATAAGCTTCTGATGCCAACTCTTCCTGAC TAGAGTGAAATATAGGGCTGTTTTCCTTTTGATTCAGGG GTGAGCTTATGGAACCAAGGAAGAGCTGATGAAGTTGT CAGTGCCTCTGTT[G/C]GGAGTGGGGACCTCTGGATCCC AGTGAAGAGCTTCGACTCCAAGGTGAGTTCCTCTCCTTT TCTCAGCTTTGAGACTGCCGAAGCTTTTAAATCACATTA GCTGCTTTGGTATTCTCTC

Çizelge 3.3. *GDF5* genine ait rs143383 özellikleri (133).

Gen Adı SNP rs No:	GDF5 – rs143383
Varyant(M>m)	5' UTR → T>C
Çoğaltılan Sekans	AGTTGTGCAGGAGAAAGGGGGCGGT[T/C]GGCTTTCTCCT TTCAAGAACGAGTT
Gen Lokalizasyonu	CTCCTTCAAGCCCTCAGTCAGTTGTGCAGGAGAAAGGGG GCGGT[T/C]GGCTTTCTCCTTTCAAGAACGAGTTATTTTCA GCTGCTGACTGGAGACGGTGCACGTCTGGATACGAGAGC ATTTCCACTATGGGACTGGATACAAACACACACCCGGCA GACTTCAAGAGTCTCAGACTGAGGAGAAAGCCTTTCTT CTGCTGCTACTGCTGCTGCCGCTGCTTTTGAAAGTCCACT CCTTTCATGGTTTTTCTGCCAAACCAGAGGCACCTTCGC TGCTGCCGCTGTTCTCTTTGGTGTCATTCAGCGGCTGGCC AGAGGATG

Çizelge 3.4. *TIMP4* genine ait rs143383 özellikleri (134).

Gen Adı SNP rs No:	TIMP4 – rs308952
Varyant(M>m)	3. intron → G>A
Çoğaltılan Sekans	AACTCGTTCTTGAAAGGAGAAAGCC[A/G]ACCGCCCCCTT TCTCCTGCACAAC
Gen Lokalizasyonu (Komplementer Sekans)	TCTTTAGGGATGGGGGAAGGGTTCTGAGCCTTCATTCATG CATGAATTTATTCACCTACTAGACTATACTTGAGATCTGCA CTGTATGAAGTTGGGGATGAGAAAGCAATACAGTCTATA GGCCCTGATCTCAAAGTACTTACACTTTGGCTGGGAAGGT GGCCATCACAGGAGGCAGAC[T/C]GAGATAACTGTAACAC AGCTACCCTTTAAAGAGAGTCTATTCTTTGCCAGCCACTG TAATAGTAAATTTACTGTAAATGTTTAATTTAGTCTCCAAA ACATATTTATGAAGAATTAAGATTTCCATTTAAGGTGAA GAAATGAAAGCTCTGGCAAGTGAAGTGCTCAAGGTCAGT GGTAGAGTAAGGACCCTCAGAGCTGTCTGACTCCAGAGAT GC

3.4.2. Real Time-PCR reaksiyon ortamının hazırlanması

Her bir polimorfizm için aşağıdaki Real Time-PCR reaksiyon karışımı kullanılmıştır:

- 2X TaqMan Universal PCR Master Mix 12,5 µl
- 40X SNP Genotyping Assay Mix..... 1,2 µl
- Distile Su..... 9,5 µl

Verilen miktarların her biri çalışmada kullanılacak örnek sayısı ile çarpılarak hazırlandı (Çizelge 3.6). Real Time-PCR reaksiyon karışımı 96 kuyucuklu saydam plate'in (Applied Biosystems) kuyucuklarına, her bireye ait DNA örnekleri 2.5 µl olacak şekilde dağıtıldı. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her bir reaksiyon tabağında örnek DNA içermeyen negatif kontrol kuyucuğu kullanıldı. Reaksiyon karışımı kuyucuklara dağıtıldıktan sonra 96 kuyucuklu plate için

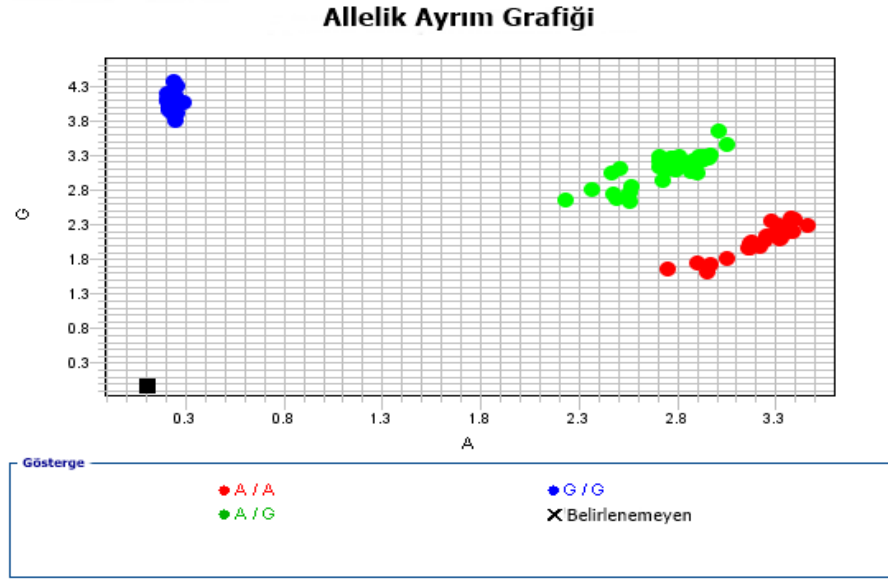
Microamp® TM Optical Adhesive Covers (Applied Biosystems) ile kuyucukların üzeri kaplandı ve Çizelge 3.5’deki protokollere göre SDS 2.0.3 software for allelic discrimination (Applied Biosystems)’ programı ayarlanarak plate cihaza yerleştirildi.

Çizelge 3.5. Real-Time PCR için kullanılan miktar ve protokoller.

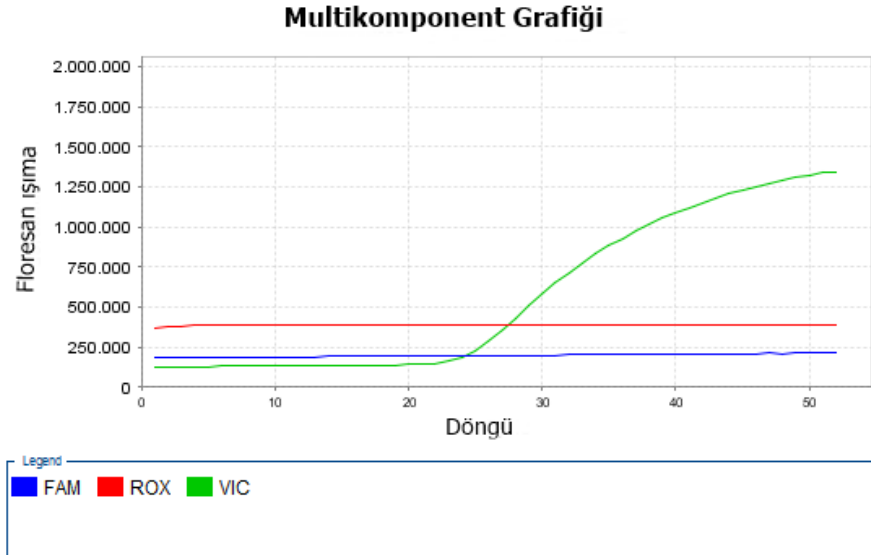
Reaksiyon Basamakları	SNP		<i>ADAM12/rs3740199</i>		<i>GDF5/rs143383</i>		<i>TIMP4/rs308952</i>	
	Sıc (C°)	Süre	Sıc (C°)	Süre	Sıc (C°)	Süre	Sıc (C°)	Süre
İlk denatürasyon	95°C	10'	94°C	5'	95°C	10'		
Denatürasyon	95°C	15"	94°C	1'	95°C	15"		
Bağlanma	60°C	1'	53°C	45"	54°C	1,5'		
Uzama	60°C	1'	60°C	1'	60°C	1'		
Son uzama	60°C	1'	60°C	1'	60 °C	1'		
Döngü sayısı	50		50		50			

3.5 Genotip Tayini

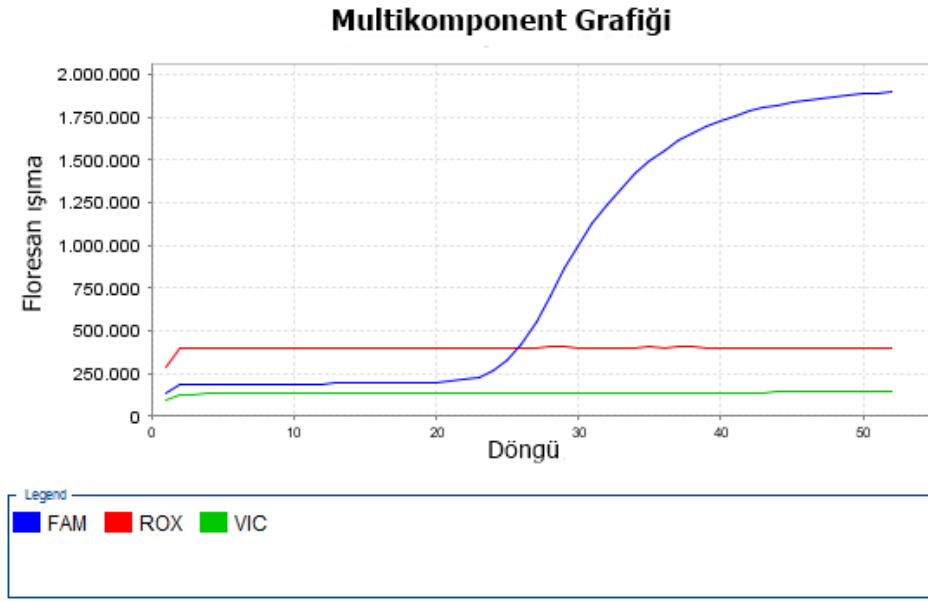
ADAM12 (rs3740199), GDF5 (rs143383), TIMP4 (rs308952) gen polimorfizmleri için 100 hasta ve 75 kontrol ile gerçekleştirilen araştırmada, her bir birey için “Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays” sistemine göre Real Time-PCR yöntemiyle, allellere uygun floresan boya (VIC, FAM) ile işaretlenip elde edilen amplifikasyon eğrileri ile her bir örneğin genotip analizi yapıldı (Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4).



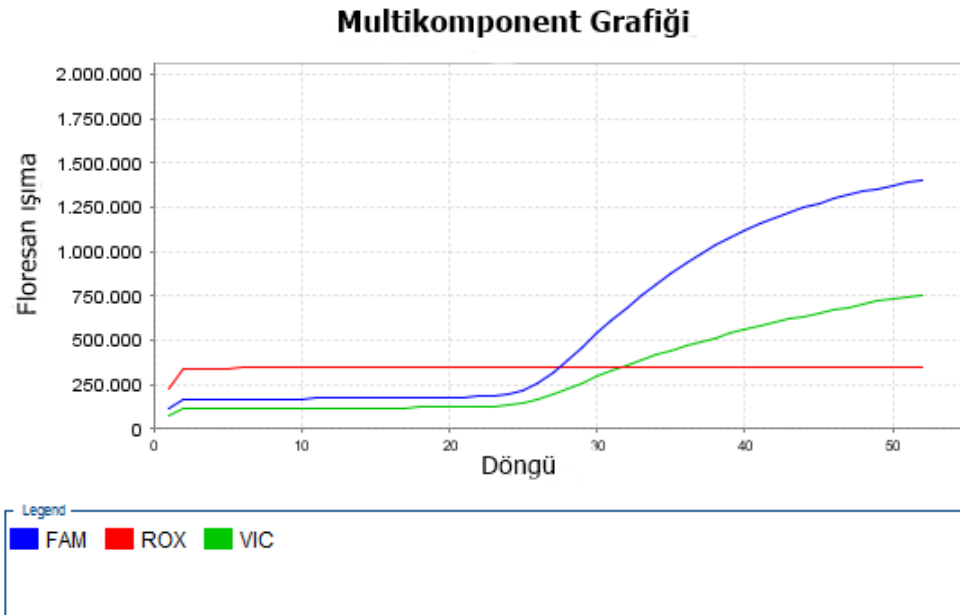
Şekil 3.1: *GDF5* rs143483 için TaqMan® MGB problr (A=VIC, G=FAM) ile allelik ayrımı. elde edilen PCR örneklerinde, hasta gruplarının allel dağılımı (n=95, N kontrol). Mavi renkli küreler G/G genotipini, kırmızı renkli olanlar ise A/A genotipini göstermektedir. Yeşil renkli küreler ise heterozigot A/G genotipli örnekleri göstermektedir.



Şekil 3.2: *ADAM12* rs3740199 polimorfizmi G>C için genotipleme sonucunda elde edilen grafikte homozigot C/C genotipi. Yeşil renkli eğri C allelini (VIC), mavi renkli eğri G allelini (FAM), ve kırmızı renkli yatay çizgi arka plandaki ışımı belirten ROX referans boyayı temsil etmektedir.



Şekil 3.3: *ADAM12* rs3740199 polimorfizminde genotipleme sonucunda elde edilen grafikte homozigot G/G genotipi.



Şekil 3.4. *ADAM12* rs3740199 polimorfizmi için elde edilen grafikte heterozigot C/G genotipi.

3.6 İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışmada diz osteoartritli hastalar ve kontrollerdeki ADAM12, GDF5, TIMP4 genlerinin polimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla uygulanan istatistiksel testler, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan danışmanlık alınarak yapıldı.

Allellerin genotiplere dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlerle uyumunun (Hardy-Weinberg (HW) dengesi) incelenmesinde ki-kare testi kullanılmıştır. Genotiplerin ve allellerin olası riskleri odds oranı hesaplanarak belirlenmiştir. Genotiplerin diğer parametrelerle karşılaştırılması için Ki-kare testi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar için $p < 0.05$ anlamlılık değeri olarak kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

Bu çalışmada Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniği'nde Amerikan Romatoloji Koleji kriterlerine göre diz osteoartriti tanısı konmuş, 40 yaş üzeri 100 hasta ve dahil edilme kriterlerini taşımayan 40 yaş üzeri 75 kontrol ile çalışmıştır.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet açısından dağılımı

<i>CİNSİYET</i>	Kadın (%)	Erkek (%)	Toplam
Hasta	86 (86)	14 (14)	100
Kontrol	65 (86,7)	10 (13,3)	75
Toplam	151 (86,3)	24 (13,7)	175

Cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubunda 151 (%86,3) kadın, 24 (%13,7) erkek bireyle çalışılmıştır. Yaş bakımından elde edilen istatistik veriler, vaka grubunun yaş ortalamasının $55,57(\pm 5,457)$, kontrol grubunun ise yaş ortalamasının $54,91 (\pm 5,5)$ olduğunu göstermiştir. Hasta kontrol grupları arasında cinsiyet ($p=1,000$) ve yaş ($p=0,429$) dağılımı bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1, 4.2).

Çizelge 4.2 . Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

YAŞ	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	P
Hasta	100	55,57	5,457	0,429
Kontrol	75	54,91	5,	

4.1 Genotip Dağılımı ve Allel Frekanslarının Değerlendirilmesi

Çalışmada cinsiyet ve yaş bakımından benzer, hasta ve kontrol gruplarındaki ADAM12, GDF5, TIMP4 gen polimorfizmlerinin genotip oranları ve allel frekansları istatistiksel olarak incelenmiştir ve Hardy Weinberg denge kontrolü sonucunda tüm polimorfizmler bakımından hasta ve kontrol gruplarının dengede olduğu gözlenmiştir ($p>0,05$).

4.1.1 ADAM12 G>C rs3740199 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı

Yapılan istatistiksel analizde; kontrol ve hasta gruplarının ADAM12 geninin rs3740199 polimorfizmi açısından tespit edilen, hasta grup için $p=0,253$ ve kontrol grubu için $p=0,525$ değerleri, “Hardy-Weinberg” dengesinin sağladığını göstermiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0,943$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. ADAM12 genine ait rs3740199 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı

<i>ADAM12</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Genotip	n (%)	n (%)	
CC	20 (20)	15 (20)	0,943
GC	43 (43)	34 (45)	
GG	37 (37)	26 (34)	
HW (p)	0,253	0,525	

ADAM12 geninin rs3740199 polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında, diz osteoartritli hasta ile kontrol grubu arasında genotip dağılımları; hasta grubunda G/G genotipinin sıklığı %37, C/C genotip sıklığı %20 ve G/C genotip sıklığı ise %43 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise benzer şekilde G/G genotipinin sıklığı %34,7, C/C genotipinin sıklığı %20 ve G/C genotipinin sıklığı %45,3 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. ADAM12 genine ait rs3740199 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları

<i>ADAM12</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Allel Frekansı	n (%)	n (%)	
C	83 (41,5)	64 (42,7)	0,913
G	117 (58,5)	86 (57,3)	

Sonuçlar allel sıklığı açısından oransal olarak incelendiğinde, hasta grubunda G allelinin frekansı % 58,5, C allelinin frekansı %41,5 iken, kontrol grubunda G allelinin frekansı %57,3, C allelinin frekansı %42,7 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılım açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,913) (Çizelge 4.5.)

4.1.2 *GDF5* A>G rs143383 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı

Çalışmada grupların *GDF5* geninin rs143383 polimorfizmi açısından istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu, hasta grup için $p=0,139$ ve kontrol grubu için $p=0,884$ değerleri ile “Hardy-Weinberg” dengesini sağladıkları tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,141$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5. *GDF5* genine ait rs143383 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı

<i>GDF5</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Genotip	n (%)	n (%)	
AA	31 (31)	20 (26,7)	
AG	50 (50)	31 (41,3)	0,141
GG	19 (19)	24 (32)	
HW (p)	0,139	0,884	

GDF5 geninin rs143383 polimorfizmi açısından genotip oranları karşılaştırılmış, diz osteoartritli hasta grubu ile kontrol grubu arasında genotip dağılımlarının; hasta grubunda A/A genotipinin sıklığı %31, G/G genotip sıklığı %19 ve A/G genotip sıklığı ise %50 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise A/A genotipinin sıklığı %26,7, G/G genotipinin sıklığı %41,3 ve A/G genotipinin sıklığı %32 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *GDF5* genine ait rs143383 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları

<i>GDF5</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Allel Frekansı	n (%)	n(%)	
A	112 (56)	71 (47,3)	0,134
G	88 (44)	79 (52,7)	

Sonuçlar allel sıklığı açısından oransal olarak incelendiğinde, hasta grubunda A allelinin frekansı %56, G allelinin frekansı %44 iken, kontrol grubunda A allelinin frekansı %47,3, C allelinin frekansı %52,7 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılımı açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,134) (Çizelge 4.7).

4.1.3 *TIMP4* G>A rs308952 Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekanslarının Hasta ve Kontrol Grubu Arasındaki Dağılımı

Kontrol ve hasta gruplarında *TIMP4* geninin rs308952 polimorfizmi açısından yapılan istatistiksel analizde; hasta grubu için p=0,721 ve kontrol grubu için p=0,268 değerleri ile “Hardy-Weinberg” dengesinin sağlandığı saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p=0,257) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. *TIMP4* genine ait rs308952 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki genotip dağılımı

<i>TIMP4</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Genotip	n (%)	n (%)	
GG	84 (84)	58 (77,3)	
GA	15 (15)	17 (22,7)	0,257
AA	1 (1)	0 (0)	
HW (p)	0,721	0,268	

TIMP4 geninin rs308952 polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında ise; diz osteoartritli hasta grubu ile kontrol grubu arasında genotip dağılımlarının; hasta grubunda G/G genotipinin sıklığı %84, A/A genotip sıklığı %1 ve G/A genotip sıklığı ise %15 olarak, kontrol grubunda ise benzer şekilde G/G genotipinin sıklığı %77,3, A/A genotipinin sıklığı %0 ve G/A genotipinin sıklığı %22,7 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. *TIMP4* genine ait rs308952 polimorfizminin hasta ve kontrol bireylerindeki allel frekansları

<i>TIMP4</i>	Hasta (n=100)	Kontrol (n=75)	P
Allel Frekansı	n (%)	n (%)	
G	183 (91,5)	133 (66,5)	
A	17 (8,5)	17 (33,5)	0,482

Sonuçlar allel sıklığı açısından oransal olarak incelendiğinde, hasta grubunda G allelinin frekansı %91,5, A allelinin frekansı %8,5 iken, kontrol grubunda G allelinin

frekansını %66,5, A allelinin frekansını %33,5 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılımı açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,482$) (Çizelge 4.9).

5.TARTIŞMA

Osteoartrit, ortopedik hastalıklar içerisinde en önemli hastalıklardan biridir ve dünya genelinde en yüksek prevalansa sahip eklem hastalığıdır. Hastalık etkilenen eklemlerde kronik ağrılara ve fonksiyon kaybına sebep olan progresif eklem kıkırdağı kaybı ve osteofit formasyonu ile karakterize edilir. OA gelişiminde farklı faktörler rol oynayabilir. Çoğunlukla travmatik olaylar sebep olsa da genetik yatkınlık, eklem hatalı pozisyonu, yaşlanma ve yanlış beslenme gibi faktörlerde eklem kıkırdağında benzer değişikliklere sebep olmaktadır (2).

Epidemiyolojik çalışmalar sonucu elde edilen prevalans paterni, osteoartritin yaş ile arttığını ve cinsiyetler arası farklılıklar olabileceğini göstermiştir. 50 yaşından önce çoğu eklem bölgesindeki OA prevalansı erkeklerde kadınlardan daha yüksektir. 50 yaş ve sonrasında ise el, ayak ve diz OA açısından kadınlar erkeklerden daha fazla etkilenmektedir. Genel olarak, kalça OA erkeklerde daha sık rastlanır. Populasyon tabanlı araştırmalar, hastalığın insidans ve prevalansının 30 ve 65 yaşları arasında 2 ile 10 kat arasında artış gösterdiğini belirtmektedir (28).

Osteoartrit, semptomları ya da patolojisi ile belirlenir. OA patolojisi, tüm eklemi kapsayan bir hastalık prosesidir. Bu proses kemik yüzeyini kaplayan bölgesel ve progresif kıkırdak kaybına eşlik eden, anormal gelişen çıkıntılar, osteofit ve kemik zarının kalınlaşması (kemik sklerozu) gibi değişimleri içerir. Ayrıca eklemlerde ve çevresindeki sinoviyum, ligament ve kas gibi yumuşak dokular da etkilenir (28).

Osteoartrit, genetik ve çevresel faktörler ile belirlenen multifaktöriyel bir hastalıktır. OA' da güçlü genetik bir yatkınlık durumunun söz konusu olduğu Stecher ve ark. el OA üzerine 1941'de yaptıkları çalışmadan beri bilinmektedir (74). Daha sonraki aile ve ikiz çalışmaları akrabalar ve yüksek benzerlik gösteren ikizler arasında prevalansın arttığını göstermiştir (75,81). Bağlantı analizleri 2, 4, 6, 7, 11, 16 ve X kromozomu üzerinde OA'ya yatkınlık oluşturabilecek genlerin bulunduğunu göstermiştir. Dünya çapında birkaç merkezde genetik yatkınlık çalışmaları yapılmasına rağmen, bu genlerdeki polimorfizmlerin frekansı farklı populasyonlarda belirgin bir farklılık gösterir. OA yatkınlığı için ADAM12, BMP2, CD36, COX2 ve NCORD2

genlerinde önemli bir bağlantı bulunmuştur. Bu durum üzerinde jeo-etnik farklılıklarında etkili olduğuna dair kanıtlar vardır. Örneğin, GDF5 gen polimorfizmi Japon ve Çin popülasyonlarında OA yatkınlığı için ilişkili bulunurken İngiliz, İspanyol ve Kafkas popülasyonlarında ilişkili bulunamamıştır. OA ile ilişkili birçok gen polimorfizmi mevcuttur fakat bu polimorfizmlerin hastalıkla kesin olarak ilişkilendirilebilmesi için farklı jeo-etnik gruplarda da çalışılması gerekmektedir. OA'ya yatkınlıkta aday genler için, özellikle tipII kollajen ve ekstrasellüler matriksteki diğer yapısal bileşenleri kodlayan genler, östrojen ve vitamin D reseptör geni, kemik ve kartilaj büyüme faktörlerini kodlayan genler üzerinde odaklanılmıştır (3).

Genotip analiz yöntemlerinde kaydedilen gelişmeler, tek bir çalışmada 1000 bireyin genotipinin kısa bir sürede belirlenmesini ve her bir kişi için 1 milyondan fazla tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) tespit edilmesini (genotipleme) mümkün hale getirmiştir. Şimdiye kadar yapılmış SNP haritalama çalışmalarında beyazlardaki genomun %85'inin SNP'leri kapsamı, genomik bağlantı çalışmalarının osteoartrit gibi multifaktöriyel hastalıklarda genetiğin katkısını belirleme potansiyeli olduğunu göstermektedir (75). Bu nedenle biz çalışmamızda, hem osteoartrit gelişimindeki belirlenen rolleri, hemde genom ilişkilendirme çalışmaları, bağlantı analizleri gibi universal düzeyde gerçekleştirilen araştırmalar sonucu aday gen olarak belirlenmeleri nedeniyle araştırmamıza dahil ettiğimiz ADAM12 genine ait rs3740199, GDF5 genine ait rs143383 ve TIMP4 genine ait rs308952 polimorfizmlerinin diz OA'nın moleküler patogenezindeki olası etkisini araştırdık.

Osteoartrit, eklemlerde yapım ve yıkım arasındaki dengenin yıkım yönünde bozulmasıyla meydana gelir ve eklem dokusunda meydana gelen bu dejenerasyondan genel olarak metallo proteinazlar sorumludur. Bunlardan özellikle MMP, ADAM ve ADAMT ailesi üyeleri artirik yıkımda rol oynayan kilit moleküllerdir (135, 136). ADAM12 plasenta ve malignan tümörler gibi hızlı gelişen dokularda yüksek derecede eksprese edilen aktif bir proteazdır. ADAM12'nin bir splice varyantının insan OA kıkırdağında aşırı eksprese edildiği bulunmuştur ve son çalışmalar OA hastalarının serumunda ADAM12 protein miktarının arttığı göstermiştir. Bunlara ek olarak genetik varyantlarından biri (SNP rs 1871054) diz radyografik OA da bir risk ön göstergesi olarak belirlenmiştir (18, 137).

Valdes ve ark.'larının (2004) 24 farklı aday gene ait 26 gen polimorfizmi ile diz OA ilişkisini araştırdıkları çalışmada, ADAM12, BMP2, CD36, COX2, NCOR2 ve NCOR3 genleri ile OA yatkınlığı arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir (10).

Kerna ve ark.'larının (2009) yaptığı bir çalışmada ise 32-55 yaşları arasındaki 189 radyografik diz OA (RDOA)'lı hastada ADAM12 genine ait iki gen (rs3740199 ve rs1871054) polimorfizmi araştırılmış ve rs3740199 ile kadınlardaki patellofemoral OA arasında istatistiksel olarak güçlü bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca kadınlarda OA progresyonu ve eklem boşluğundaki daralma ile rs3740199 polimorfizmi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. rs1871054'nin OA yatkınlığı ve progresyonu ile hangi bir ilişkisi bulunamamıştır (138).

Kerna ve ark.'ları (2013) yaptıkları popülasyon tabanlı çalışmada ise 32-52 yaşları arasında radyografik diz OA (RDOA)'ya sahip 303 tanesi kadın 438 hasta üzerinde ADAM12 genine ait rs3740199, rs1871054, rs1278279 ve rs1044122 polimorfizmlerini araştırmışlardır. Araştırmaya dahil olan hastaların % 51.4'ünde erken RDOA tespit edilirken, %12,3 ünde ilerlemiş RDOA tespit edilmiştir. rs1044122 A alleli tibiofemoral eklemdaki (TFE) erken RDOA ile, rs1871054 C alleli ise ilerlemiş RDOA ile ilişkili bulunmuştur. rs3740199 ve rs1278279 polimorfizmleri ile belirli bir istatistik bağlantı bulunamamıştır (18).

Sulianğ ve ark.'ları (2014) tarafından Çin popülasyonu üzerinde yapılan, diz OA yatkınlığının ADAM12 genine ait rs3740199, rs1871054, rs1278279 ve rs1044122 polimorfizmleri ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmada, rs1871054 polimorfizmi ile OA gelişim riskinin artışı arasında belirgin bir ilişki bulunmuştur (54). Yine Çin'de Wang ve ark tarafından yapılan diz OA ile ADAM12 gen polimorfizmlerinin ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, rs1278279, rs3740199, rs1044122 ve rs1871054 polimorfizmleri incelenmiş ve benzer şekilde diz OA gelişim riski ile sadece rs1871054 istatistiksel olarak ilişkili bulunmuştur (139).

Yaptığımız çalışmada diz OA'lı hastalarda araştığımız ADAM12 genine ait rs3740199 polimorfizmi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ADAM12 geninin veya proteininin artritlik kırıkardaki ekspresyon düzeyindeki artış (136) tek nükleotid polimorfizmlerinden kaynaklanabileceği için bu gende osteoartritle ilişkili diğer

polimorfizmlerin de araştırılması gerekmektedir. Literatür çalışmaları incelendiğinde, osteoartrit ile alakalı aynı populasyon grubu içinde farklı örneklem sayısı ile yapılan iki çalışma (18 ve 138) bu polimorfizm bölgesinin osteoartrit ile ilişkisi açısından farklı veriler sunmaktadır. Bu durum örneklem sayısı yeterli seviyeye ulaştığında elde edilecek sonuçların değişebileceğini ve bu açıdan yaptığımız çalışmanın bundan sonraki çalışmalara ışık tutabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra ADAM12 genine ait farklı populasyonlarda yapılan SNP araştırmalarında OA ile en sık ilişkili bulunan rs1871054 (18,54,139), daha sonra Türk populasyonu üzerinde yapılacak çalışmalar için önemli bir araştırma konusu olabilir.

GDF5 eklem kıkırdağının gelişiminde ve onarımında hayati bir rol oynayan, önemli bir büyüme faktörüdür. GDF5 geninin regülatör bölgesindeki rs143383 polimorfizmi C ve T iki allelik forma sahiptir. Farklı etnik populasyonlarda yapılan genetik çalışmalarda T allelinin osteoartrit riskini arttırmasıyla ilişkili bulunurken, önceden yapılmış fonksiyonel çalışmalarda bu allelin C allele göre daha düşük GDF5 transkripsiyonuna sebep olduğu tespit edilmiştir (140).

Evangelou ve ark.'larının (2009) yaptığı GDF5 ve FRZB gen polimorfizmi ve osteoartrit fenotipi ilişkisinin belirlenmesi için 14 araştırma grubu verilerinin dahil edildiği bir meta-analizi çalışmasında, kalça ve dizin her biri için 5000'den fazla hastanın ve yaklaşık 8000 kontrolün verilerine dayanarak, GDF5 genindeki polimorfizm ile diz osteoartriti arasındaki bağlantı için kuvvetli kanıtlara, kalça osteoartriti için ise zayıf kanıtlara ulaşılmıştır (141).

Shin ve ark.'larının (2012) Kore'de 50 yaş ve üzeri 2462 hasta bireyin katıldığı ve diz OA ile GDF5 ve ADAM12 genleri arasında genetik ilişkinin araştırıldığı çalışmada; GDF (rs 143383) ve ADAM12 (rs 3740199) genlerinde hasta ve kontrol grubu arasında genotip frekans açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (142).

Chapman ve ark.'larının (2008) OA'ya yatkınlık ile GDF5 geni 5' UTR bölgesinde fonksiyonel SNP 'nin Avrupa ve Asya populasyonlarındaki rolünün meta analiz yapılarak araştırıldığı ve 11000 bireyin katıldığı çalışmada GDF5 (+104 T/C rs143383) SNP'sinin hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık görülmüş

ayrıca Avrupa ve Asya gibi farklı etnik gruplarda diz OA progresyonunda risk faktörü olabileceği gösterilmiştir (19).

Vaes ve ark'larının (2009) 6365 bireyde yaptıkları populasyon dayalı çalışmada, GDF5 geninin (rs 143383 T>C) polimorfizminin GDF5 gen varyantlarının el OA ve diz OA kadınlarda risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (122).

Mishra ve ark'larının (2013) diz OA ile GDF5 polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada; +104 T/C GDF5 polimorfizmi ile diz OA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (55).

Rovaault ve ark'larının (2010) Kafkas populasyonunda dizde konjenital dislokasyon ve GDF5 polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada rs143384 polimorfizmi ile OA arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş (124).

Minafra ve ark'larının (2014) yaptığı diz OA'ya yatkınlıkta genetik, klinik ve radyografik bulguların etkisi adlı çalışmada GDF5 (rs143383) polimorfizmi 66 Sicilyalı ve primer olarak diz OA olan bireyle çalışılmıştır. Sonuç olarak KL derecelendirme ile hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür (9).

Valdes ve ark.'larının (2009) İngiliz populasyonunda, DVWA ve GDF5 gen polimorfizmlerinin OA ile ilişkisini araştırdıkları çalışmada, GDF5 rs143383 polimorfizmi yüksek diz OA riski le ilişkili bulunurken, DVWA rs7639618 polimorfizminin diz OA ile ilişkisi bulunmamıştır (143).

Literatür taraması sonucu farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmaların çoğunda rs143383 polimorfizmi özellikle diz OA ile ilişkili bulunmasına rağmen, bizim çalışmamızda bu polimorfizm için hasta ve kontrol bireyleri arasında genotip dağılımları ve allel frekansları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,005$). Dodd ve ark.ları (2013) 5' UTR bölgesinde yer alan rs143383 polimorfizminin C/A transversiyon varyantının, transkripsiyon faktörlerinin promotora bağlanmasını etkileyerek GDF5 ekspresyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir (144). Daha önce yapılmış çalışmalarda rs143383 T>C polimorfizminde T allelinin ekspresyonu arttırdığı yönündeki bulgular ve bu polimorfizmin lokasyonu, bu SNP'deki her türlü varyasyonun genin ifadesini direkt etkilediğini düşündürmektedir. Bizim

bulgularımızda rs143383 polimorfizmi için T/C allelik oranları hastalarda 112/88, kontrolde 71/79 olduğu göz önüne alındığında daha güçlü sonuçlar elde etmek için örneklem sayısının artırılması gerektiği düşünülmektedir.

Kartilaj degradasyonundan büyük ölçüde sorumlu olan MMP'lerin inhibisyonu TIMP'ler tarafından sağlanır. Kartilaj homeostazisi için bu iki molekül arasındaki denge çok önemlidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda TIMP3'ün agrekanaz aktivitesinin inhibisyonun da, farklı olarak TIMP1 ve TIMP2 'nin büyüme-indüklenme aktivitesinde rol aldığı belirtilmiştir (145). Huang ve ark.'larının (2002) TIMP4 geni ile osteoartrit arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında ise femur başı kırıkta olduğu OA bulunan hastalarda TIMP4'e ait RNA, protein ekspresyon seviyesi ve protein miktarının artmış olduğunu tespit etmişlerdir (146).

Yine Huang ve ark.'larının (2011) yaptığı osteoartritik sinoviyal membranlarda TIMP4 geninin ekspresyonundaki artışı ve kondrositlerde sitokinlerce düzenlenmesinin araştırıldığı çalışmada sinoviyal fibroblast hücrelerinde TIMP4 geninin ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (126).

Lee ve ark.'larının (2008) Kore populasyonunda OA riski ile TIMP 4 gen polimorfizminin araştırıldığı çalışmada; 109 OA'lı, 177 RA 'lı hasta ve 175 sağlıklı kontrol bireyde TIMP2 ve 4 genlerinde lokalize SNP'ler e bakılmıştır. TIMP4 geninde C/T (rs 7035945) polimorfizminin allel frekansı hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gösterilmiştir. TIMP2 SNP polimorfizmin de hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sonuç olarak TIMP4 geninin 3' transkribe edilmeyen bölgesinde lokalize C/T allelik varyasyonun OA'ya yakınlıkla bir ilişkisi olabileceği belirlenmiştir (125).

TIMP4 ailesi üyelerinin MMP, ADAM ve ADAMT metalloproteinaz ailelerinin regülasyonundaki rolü, osteoartritik kartilaj degradasyonundan birinci derecede bu protein ailelerinin sorumlu olduğu düşünüldüğünde, OA etiyopatogenezinin açıklanması için önemli bir basamaktır. Yapılan literatür taramaları bu gen ile ilgili bir çok ekspresyon çalışması olmasına rağmen nispeten az sayıda polimorfizm çalışması olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda TIMP4 genine ait rs308952 polimorfizminde diz OA'lı hastalar ve kontrol grupları arasında genotipik dağılım ya da

allel frekansları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,005$). Fakat bizim sonuçlarımız, bu güne kadar az sayıda çalışma yapılmış olan bu polimorfizm ya da genin OA ile ilişkisinin araştırılmasında kaynak olarak kullanılması açısından önemlidir.

Yaptığımız bu vaka-kontrol çalışmasında, osteoartrit hastalığının ADAM12, GDF5 ve TIMP4 genlerindeki üç polimorfizm ile ilişkisi araştırılmış ve diz osteoartritli hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır, fakat örneklem sayımız düşük olsa da üç polimorfizm için tespit ettiğimiz allel frekansları, Türk populasyonun genel itibarı ile benzerlik gösterdiği Kafkas ve Avrupa ırkları ile paralellik göstermektedir (147,148,149).

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

OA, sinoviyal eklemlerde kırıkdağ, kemik, sinovyal zar başta olmak üzere bütün dokularının etkilendiği, günlük yaşamda kısıtlanmaya yol açan ağrı ile karakterize, dejeneratif, multifaktöriyel bir eklem rahatsızlığıdır. Etiyolojisinde çoğu zaman sistemik (yaş, cinsiyet, beslenme, genetik...) ve mekanik (obezite, yaralanma, kas zayıflığı, travmalar...) faktörlerin birlikte etkileşimi söz konusudur. Prevalansı ve insidansı cinsiyetler arasında farklılık gösterse de genel itibarı ile yaşla birlikte artmakta ve toplumun yaklaşık %60'ının etkilemektedir. Osteoartritte genetik yatkınlığın kanıtı 1940'larda bildirilmiştir. O zamandan günümüze kadar yapılan ailesel yığılım çalışmaları, ikiz çalışmaları, bağlantı analizleri ve genomik ilişkilendirme çalışmaları ile hastalığın genetik profili oluşturulmaya çalışılmaktadır.

Bu çalışmada diz osteoartritli 100 hasta ve 75 sağlıklı bireyde, real-time PCR ile hastalığın patogeneğinde etkili olabileceği düşünölen ADAM12 rs3740199, GDF5 rs143383, TIMP4 rs308952 polimorfizmleri araştırılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucunda; bu polimorfizmler açısından, hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Çalışmaya dahil ettiğimiz örneklem sayısının popülasyonu yeterince yansıtamayabileceğini ve bu konuda farklı bölgelerde ve daha fazla sayıda örneklem ile yapılmış çalışmalara ve ayrıca bu genler ile OA ilişkisini açıklayabilmek için aynı gene ait farklı polimorfizmlerinde araştırılmasına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Bunun yanı sıra osteoartrit mekanik faktörlerin de etkisiyle meydana gelebilen bir hastalık olduğu için hasta ve örneklem grubu oluşturulurken hastalığın etiyolojik nedenleri göz önüne alınabilirse hastalığın genetik bağlantısı ile alakalı daha belirleyici sonuçlar elde edilebileceği düşünölmektedir.

Diz osteoartriti ile ilişkisinin belirlenmesi için seçilen bu polimorfizmler Türk popülasyonunda ilk defa araştırıldığı için bu hastalık üzerine yapılacak çalışmalara yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Steven B, Attur A, Attur M.** Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, **2009**; 11:227.
2. **Lorenz H, Richter W.** Osteoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* **40**, **2006**;135–163.
3. **Das SK, Farooqi A.** Osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, **2008**; 22(4): 657–675.
4. **Loughlin J.** The genetic epidemiology of human primary osteoarthritis: current status. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, **2005**; 7: 1-12.
5. **Ryder JJ, Garrison K, Song F, Hooper L, Skinner J, Loke Y, Loughlin J, Higgins JPT, MacGregor AJ.** Genetic associations in peripheral joint osteoarthritis and spinal degenerative disease: a systematic review. *Ann Rheum Dis*, **2008**; 67: 584-591.
6. **Spencer JM, Loughlin J, Clipsham K, Carr AJ.** Genetic background increases the risk of hip osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics & Related Research*, **2005**; 431: 134-137.
7. **Young HL, Young HR, Seong JC, Jong DJ, Gwan GS.** Osteoarthritis susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis. *Rheumatology International*, **2006**; 26(11): 959-963.
8. **Valdes AM, Oene MV, Hart DJ, Surdulescu GL, Loughlin J, Doherty M, Spector TD.** Reproducible genetic associations between candidate genes and clinical knee osteoarthritis in men and women. *Arthritis & Rheumatism*, **2006**; 54(2): 533–539.
9. **Minafra L, Bravatà V, Saporito M, Cammarata FP, Forte G I, Caldarella S, D'Arienzo M, Gilardi MC, Messa C, Boniforti F.** Genetic, clinical and radiographic signs in knee osteoarthritis susceptibility. *Arthritis Research & Therapy*, **2014**; 16:R91.
10. **Valdes A M, Hart D J, Jones K A, Surdulescu G, Swarbrick P, Doyle D V, Schafer AJ, Spector T D.** Association study of candidate genes for the prevalence and progression of knee osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, **2004**; 50(8): 2497–2507.
11. **Loughlin J.** Polymorphism in signal transduction is a major route through which osteoarthritis susceptibility is acting. *Curr Opin Rheumatol*, **2005**;17(5):629–33.
12. **Sharma L, Kapoor D, Issa S.** Epidemiology of osteoarthritis: An update. *Curr Opin Rheumatol*, **2006**;18(2):147–56.
13. **Valdes AM, Spector T D.** The Contribution of genes to osteoarthritis. *Rheum Dis Clin N Am*, **2008**; 34: 581–603.

14. **Nyren-Erickson EK, Jones J M, Srivastava DK, Mallik S.** A Disintegrin and Metalloproteinase-12 (ADAM12): Function, roles in disease progression, and clinical implications. *Biochim Biophys Acta*, **2013**; 1830(10): 4445–4455.
15. **Koshy PJT, Lundy CJ, Rowan AD, Porter S, Edwards DR, Hogan A, Clark IM, Cawston TE.** The modulation of matrix metalloproteinase and adam gene expression in human chondrocytes by interleukin-1 and oncostatin M. *Arthritis & Rheumatism*, **2002**; 46(4): 961–967.
16. **Cawston TE.** Metalloproteinase inhibitors and the prevention of connective tissue breakdown. *Pharmacol Ther*, **1996**; 70: 163–82.
17. **Primakoff P, Myles DG.** The ADAM gene family: surface proteins with adhesion and protease activity. *Trends Genet*, **2000**; 16: 83–7.
18. **Kerna I, Kisand K, Tamm AE, Kumm J, Tamm AO.** Single-Nucleotide Polymorphisms in ADAM12 gene are associated with early and late radiographic knee osteoarthritis in Estonian population. *Arthritis*, **2013**, ID878126: 6sf.
19. **Chapman K, Takahashi A, Meulenbelt I, Watson C, Rodriguez-Lopez J, Egli R, Tsezou A, Malizos K N, Kloppenburg M, Shi D, Southam L, Breggen R, Donn R, Qin J, Doherty M, Slagboom P E, Wallis G, Kamatani N, Jiang Q, Gonzalez A, Loughlin J, Ikegawa S.** A meta-analysis of European and Asian cohorts reveals a global role of a functional SNP in the 5' UTR of GDF5 with osteoarthritis susceptibility. *Human Molecular Genetics*, **2008**; 17(10): 1497–1504.
20. **Storm E E, Kingsley D M.** GDF5 coordinates bone and joint formation during digit development. *Developmental Biology*, **1999**; 209: 11–27.
21. **Brew K, Dinakarbandian D, Nagase H.** Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and Function. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2000**; 1477: 267-283.
22. **Troeberg L, Nagase H.** Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2012**; 1824: 133–145.
23. **Kraan P M.** Osteoarthritis year 2012 in review: biology. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2012**; 20: 1447-1450.
24. **Soyöz M.** Osteoartrit Tanısı Konmuş Hasta Bireylerde Smad3 Gen Mutasyonlarının Analizi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, **2008**.
25. **Arden N.** Osteoarthritis: Epidemiology. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, **2006**; 20(1): 3–25.

26. **Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, et al.** National Arthritis Data Workgroup. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*, **2008**; 58(1): 26–35.
27. **Dieppe PA, Kirwan J.** The localization of osteoarthritis. *Br J Rheumatol*, **1994**;33:201–3.
28. **Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, Kington RS, Lane NE, Nevitt MC, Zhang Y, Sowers MF, McAlindon T, Spector TD, Poole AR, Yanovski SZ, Ateshian G, Sharma L, Buckwalter JA, Brandt KD, Fries JF.** Osteoarthritis: New Insights, Part 1: The disease and its risk factors. *Annals of Internal Medicine*, **2000**; 133(8): 636-646.
29. **Manninen P, Riihimäki H, Heliövaara M, Mäkelä P.** Overweight, gender and knee osteoarthritis. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, **1996**; 20(6):595-597.
30. **Rosner I, Goldberg VM, Moskowitz RW.** Estrogens and osteoarthritis. *Clin Orthop Rel Res.*, **1986**;213:77–83.
31. **Felson DT.** The epidemiology of knee osteoarthritis: Results from the Framingham Osteoarthritis study. *Semin Arthritis Rheum.*, **1990**; 20:42–50.
32. **Nevitt MC, Felson DT.** Sex hormones and the risk of osteoarthritis in women: Epidemiological evidence. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **1996**; 55(9): 673–676.
33. **Blagojevic M, Jinks C, Jefferyz A, Jordany KP.** Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2010**; 18: 24-33.
34. **Sandmark H, Hogstedt C, Lewold S, Vingård E.** Osteoarthrosis of the knee in men and women in association with overweight, smoking, and hormone therapy. *Ann Rheum Dis.*, **1999**; 58: 151–155.
35. **Nevitt MC, Lane NE, Scott JC, Hochberg MC, Pressman AR, Cummings SR.** Radiographic osteoarthritis of the hip and bone mineral density. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum.*, **1995**; 38: 907-16.
36. **Hannan MT, Anderson JJ, Zhang Y, Levy D, Felson DT.** Bone mineral density and knee osteoarthritis in elderly men and women. The Framingham Study. *Arthritis Rheum.*, **1993**; 36:1671-80.
37. **Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F.** Genetic factors in generalized osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis.*, **1963**, 22:237-255.
38. **Zhai G, Hart DJ, Kato BS, MacGregor A, Spector TD.** Genetic influence on the progression of radiographic knee osteoarthritis: a longitudinal twin study. *OsteoArthritis and Cartilage*, **2007**; 15: 222-225.

39. **Valdes AM, Doherty M, Spector TD.** The additive effect of individual genes in predicting risk of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, **2008**; 67: 124-127.
40. **Lane NE, Gore LR, Cummings SR, Hochberg MC, Scott JC, Williams EN.** Serum vitamin D levels and incident changes of radiographic hip osteoarthritis: a longitudinal study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum.*, **1999**;42:854-60.
41. **McAlindon TE, Jacques P, Zhang Y, Hannan MT, Aliabadi P, Weissman B.** Do antioxidant micronutrients protect against the development and progression of knee osteoarthritis? *Arthritis Rheum.*, **1996**;39:648-56.
42. **Felson DT, Zhang Y, Anthony JM.** Weight loss reduces the risk of symptomatic knee osteoarthritis in women: The Framingham Study. *Annals of Internal Medicine*, **1992**; 116: 535-539.
43. **Gelber AC, Hochberg MC, Mead LA.** Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Annals of Internal Medicine*, **2000**; 133: 321–328.
44. **Roos H, Lauren M, Adalberth T.** Knee osteoarthritis after meniscectomy: Prevalence of radiographic changes after twenty-one years, compared with matched controls. *Arthritis and Rheumatism*, **1998**; 41: 687–693.
45. **Englund M, Paradowski PT, Lohmander LS.** Association of radiographic hand osteoarthritis with radiographic knee osteoarthritis after meniscectomy. *Arthritis and Rheumatism*, **2004**; 50: 469–475.
46. **Coggon D, Croft P, Kellingray S.** Occupational physical activities and osteoarthritis of the knee. *Arthritis and Rheumatism*, **2000**; 43(7): 1443–1449.
47. **Chaisson CE, Zhang Y, Sharma L.** Grip strength and the risk of developing radiographic hand osteoarthritis: results from the Framingham Study. *Arthritis and Rheumatism*, **1999**; 42: 33-38.
48. **Slemenda C, Heilman DK, Brandt KD.** Reduced quadriceps strength relative to body weight: a risk factor for knee osteoarthritis in women? *Arthritis and Rheumatism*, **1998**; 41: 1951–1959.
49. **Sinkov V, Cymet T.** Osteoarthritis: Understanding the pathophysiology, genetics, and treatments. *Journal Of The National Medical Association*, **2003**;95(6): 475-482.
50. <http://joanveronica.hubpages.com/hub/Arthritis-sufferers-How-to-improve-your-quality-of-life>. Erişim Tarihi: 02.05.2015.
51. **Arıncı K, Elhan A.** Anatomi I Hareket Sistemi (Kemikler-Eklemler-Kaslar). Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara; **1993**: 101-104.

52. **Mankin H J, Radin E.** Structure and Function of Joints. In: Mc Carthy DJ, editor. Arthritis and Allied Conditions A Textbook of Rheumatology. 11th ed. Philadelphia, Lea & Febiger; London: **1989**: 189-206.
53. **Yıldırım M.** İnsan Anatomisi.6.Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul; **2003**: 58-62.
54. **Lou S, Zhao Z, Qian J, Zhao K, Wang R.** Association of single nucleotide polymorphisms in ADAM12 gene with susceptibility to knee osteoarthritis: a case-control study in a Chinese Han population. *Int J Clin Exp Pathol*, **2014**;7(8): 5154-5159.
55. **Mishra A, Sanghi D, Sharma A C, Raj S, Maurya SS, Avasthi S, Singh A, Parmar D, Srivastava RN.** Association of polymorphism in Growth And Differentiation Factor 5 Gene with Osteoarthritis Knee. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, **2013**; 9(1): 1-7.
56. **Swift A.** Osteoarthritis 1: physiology, risk factors and causes of pain. *Nursing Times*, **2012**; 108(7): 12-15.
57. **Vikkula M, Palotie A, Ritvaniemi P, Ott J, Ala-Kokko L, Sievers U.** Early-onset osteoarthritis linked to the type II procollagen gene. Detailed clinical phenotype and further analyses of the gene. *Arthritis Rheum.*, **1993**;36:401-9.
58. **Kraan PM.** Osteoarthritis year 2012 in review: biology. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2012**; 20: 1447-1450.
59. **Czarny-Ratajczak M, Lohiniva J, Rogala P, Kozłowski K, Perala M, Carter L.** A mutation in COL9A1 causes multiple epiphyseal dysplasia: further evidence for locus heterogeneity. *Am J Hum Genet.*, **2001**; 69:969-80.
60. **Martinek V.** Anatomy and pathophysiology of articular cartilage. *Dtsch Z Sportmed*, **2003**;54:166-70.
61. http://www.nature.com/nrrheum/journal/v7/n1/fig_tab/nrrheum.2010.178_F1.html.
Erişim Tarihi: 15.05.2015
62. [https://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Guidelines/Osteoarthritis_\(Members__Only\)/](https://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Guidelines/Osteoarthritis_(Members__Only)/).
Erişim Tarihi: 20.05.2015.
63. **Jacobsson LT.** Definitions of osteoarthritis in the knee and hand. *Ann Rheum Dis*. **1996**; 55(9): 656-658.
64. **Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F.** Genetic factors in generalised osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis*. **1963**; 22: 237-255.

65. **Muraki S, Oka H, Akune T, Mabuchi A, En-yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N.** Prevalence of radiographic knee osteoarthritis and its association with knee pain in the elderly of Japanese population-based cohorts: the ROAD study. *Osteoarthritis Cartilage*, **2009**; 17:1137–1143.
66. **Cho HJ, Chang CB, Yoo JH, Kim SJ, Kim TK.** Gender differences in the correlation between symptom and radiographic severity in patients with knee osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.*, **2010**; 468:1749–1758.
67. **Cubukcu D, Sarsan A, Alkan H.** Relationships between pain, function and radiographic findings in osteoarthritis of the knee: a cross-sectional study. *Arthritis*, **2012**; 2012:984060.
68. **Bedson J, Croft PR.** The discordance between clinical and radiographic knee osteoarthritis: a systematic search and summary of the literature. *BMC Musculoskelet Disord*, **2008**; 9:116.
69. **Hernández-Vaquero D, Fernández-Carreira JM.** Relationship between radiological grading and clinical status in knee osteoarthritis. A multicentric study. *BMC Musculoskelet Disord*, **2012**; 13:194.
70. **Clement ND.** Is Osteoarthritis of the knee hereditary? A review of the literature. *Hereditary Genetics*, **2013**; S1: 004.
71. **Michael JWP, Schlüter-Brust KU, Eysel P.** The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Dtsch Arztebl Int*, **2010**; 107(9): 152–62.
72. **Lee YH, Rho YH, Choi SJ, et al.** Osteoarthritis susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis. *Rheumatol Int*, **2006**; 26(11):996–1000.
73. **Anderson AS, Loeser RF.** Why is osteoarthritis an age-related disease?. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, **2010**; 24(1): 15.
74. **Stecher, R.M. Herberden’s nodes.** Heredity in hypertrophic arthritis of the finger joints. *Am. J. Med. Sci.*, **1941**; 201: 801.
75. **Valdes AM, Spector TD.** The genetic epidemiology of osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, **2010**; 22:139–143.
76. **Spector TD, MacGregor AJ.** Risk factors for osteoarthritis: Genetics. *OsteoArthritis and , Cartilage*, **2004**; 12: 39–44.
77. **Allison AC, Blumberg BS.** Familiar osteoarthropathy of the fingers. *J. Bone Join Surg. Br.*, **1953**; 40: 538-540.

78. **Fernández-Moreno M, Rego R, Carreira-Garcia V, Blanco FC.** Genetics in osteoarthritis. *Current Genomics*, **2008**, 9, 542-547.
79. **Buchana WW, Park WM.** Primary generalized osteoarthritis: Definition and uniformity. *J. Rheumatol.*, **1983**; 10: 4-9.
80. **Crain, DC.** Interphalangeal osteoarthritis characterized by painful inflammatory episodes resulting in deformity of the proximal and distal articulations. *JAMA* ,**1961**; 175: 1049-1051.
81. **Sezgin M.** Osteoartrit: Genetik. *Türkiye Klinikleri*, **2012**; 5(2): 8-14.
82. **Spector TD, Cicuttini FM, Baker J, et al.** Genetic influences on osteoarthritis in women: A twin study. *BMJ* , **1996**; 312:940–3.
83. **Cicuttini FM, Spector TD.** What is the evidence that osteoarthritis is genetically determined?. *Baillière's Clinical Rheumatology*, **1997**; 11(4): 657–669.
84. **Livshits G, Kato B, Zhai G.** Genomewide linkage scan of hand osteoarthritis in female twin pairs showing replication of quantitative trait loci on chromosomes 2 and 19. *Ann Rheum Dis*, **2007**;66:623–7.
85. **Leppa Vuori J, Kujala U, Kinnunen J.** Genome scan for predisposing loci for distal interphalangeal joint osteoarthritis: evidence for a locus on 2q. *Am J Hum Genet*, **1999**; 65(4): 1060–7.
86. **Stefánsson SE, Jónsson H, Ingvarsson T.** Genomewide scan for hand osteoarthritis: A novel mutation in matrilin-3. *Am J Hum Genet*, **2003**; 72(6):1448–59.
87. **Ingvarsson T, Stefánsson SE, Gulcher JR.** A large Icelandic family with early osteoarthritis of the hip associated with a susceptibility locus on chromosome 16p. *Arthritis Rheum*, **2001**;44(11):2548–55.
88. **Demissie S, Cupples LA, Myers R.** Genome scan for quantity of hand osteoarthritis: The Framingham Study. *Arthritis Rheum*, **2002**;46(4):946–52.
89. **Hunter DJ, Demissie S, Cupples LA.** A genome scan for joint-specific hand osteoarthritis susceptibility: The Framingham Study. *Arthritis Rheum.*, **2004**;50(8):2489–96.
90. **Lee YH, Rho YH, Choi SJ.** Osteoarthritis susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis. *Rheumatol Int.*, **2006**; 26(11): 996–1000.
91. **Valdes AM, Loughlin J, van Meurs JB.** Genome-wide association scan identifies a prostaglandin-endoperoxide synthase 2 variant involved in risk of knee osteoarthritis. *Am J Hum Genet*, **2008**; 82:1231–1240.

92. **Miyamoto Y, Shi D, Nakajima M.** Common variants in DVWA on chromosome 3p24.3 are associated with susceptibility to knee osteoarthritis. *Nat Genet*, **2008**; 40:994–998.
93. **Valdes AM, Spector TD, Doherty S.** Association of the DVWA and GDF5 polymorphisms with osteoarthritis in UK populations. *Ann Rheum Dis.*, **2009**; 68:1916–1920.
94. **Meulenbelt I, Chapman K, Dieguez-Gonzalez R.** Large replication study and meta-analyses of DVWA as an osteoarthritis susceptibility locus in European and Asian populations. *Hum Mol Genet.*, **2009**; 18:1518–1523.
95. **Wagener R, Gara S K, Kobbe B.** The knee osteoarthritis susceptibility locus DVWA on chromosome 3p24.3 is the 50 part of the split COL6A4 gene. *Matrix Biol.*, **2009**; 28:307–310.
96. **Meulenbelt I.** Osteoarthritis year 2011 in review: genetics. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2012**; 20: 218-222.
97. **Meurs JBJV, Uitterlinden AG.** Osteoarthritis year 2012 in review: genetics and genomics. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2012**; 20: 1470-1476.
98. **Reynard LN, Loughlin J.** Genetics and epigenetics of osteoarthritis. *Maturitas*, **2012**; 71: 200-204.
99. **Olsen BR.** Mutations in collagen genes resulting in metaphyseal and epiphyseal dysplasias. *Bone*, **1995**; 17(2 Suppl):45S–49S.
100. **Li Y, Olsen BR.** Murine models of human genetic skeletal disorders. *Matrix Biol.*, **1997**;16:49–52.
101. **Chapman KL, Mortier GR, Chapman K, Loughlin J, Grant ME, Briggs MD.** Mutations in the region encoding the von Willebrand factor A domain of matrilin-3 are associated with multiple epiphyseal dysplasia. *Nat Genet.*, **2001**;28:393–6.
102. **Czarny-Ratajczak M, Lohiniva J, Rogala P, Kozlowski K, Perala M, Carter L.** A mutation in COL9A1 causes multiple epiphyseal dysplasia: further evidence for locus heterogeneity. *Am J Hum Genet.*, **2001**;69:969–80.
103. **Vikkula M, Palotie A, Ritvaniemi P, Ott J, Ala-Kokko L, Sievers U.** Early-onset osteoarthritis linked to the type II procollagen gene. Detailed clinical phenotype and further analyses of the gene. *Arthritis Rheum.*, **1993**;36:401–9.
104. **Mototani H, Mabuchi A, Saito S, et al.** A functional single nucleotide polymorphism in the core promoter region of CALM1 is associated with hip osteoarthritis in Japanese. *Hum Mol Genet*, **2005**; 14(8):1009–17.

105. **Williams CJ, Jimenez SA.** Heritable diseases of cartilage caused by mutations in collagen genes. *J Rheumatol Suppl.*, **1995**;43:28–33.
106. **Loughlin J, Irlen C, Fergusson C, Sykes B.** Sibling pair analysis shows no linkage of generalized osteoarthritis to the loci encoding type II collagen, cartilage link protein or cartilage matrix protein. *Br J Rheumatol.*, **1994**;33:1103–6.
107. **Bateman JF.** Genetic aspects of osteoarthritis. *Seminars In Arthritis And Rheumatism*, **2004**; 34(6): 15–18.
108. **Sunay FB, Aydoğan Türkoğlu S, Köçkar F.** ADAMTS ailesi ve anti-anjiogenetik ADAMTS. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2012**; 38 (1): 49-56.
109. **Khourya LE, Posthumus M, Collins M, Handleyd CH, Cooke J, Raleigh SM.** Polymorphic variation within the ADAMTS2, ADAMTS14, ADAMTS5, ADAM12 and TIMP2 genes and the risk of Achilles tendon pathology: A genetic association study. *Journal of Science and Medicine in Sport*, **2013**; (16): 493-498.
110. **Sørensen HP, Vivès RR, Manetopoulos C, Albrechtsen R, Lydolph MC, Jacobsen J, Couchman JR, Wewer UM.** Enzyme catalysis and regulation: Heparan sulfate regulates ADAM12 through a molecular switch mechanism. *J. Biol. Chem.*, **2008**; 283: 31920-31932.
111. Nature Journal. http://www.nature.com/nrc/journal/v8/n12/fig_tab/nrc2459_F2.html. Erişim Tarihi: 20.05.2015.
112. Genecards Human Gene Database. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene:ADAM12> Erişim Tarihi: 01.06.2015.
113. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8038> Erişim Tarihi: 27.05.2015.
114. Genecards Human Gene Database. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene:ADAM12>. Erişim Tarihi: 10.06.2015.
115. **Kerna I, Kisand K, Suutre S, Murde M, Tamm AE, Kumm J, Tamm OA.** The ADAM12 is upregulated in synovitis and postinflammatory fibrosis of the synovial membrane in patients with early radiographic osteoarthritis. *Joint Bone Spine*, **2014**; (81): 51-56.
116. **Degenkolbe E, Ko J, Zimmer J, Walther M, Reißner C, Nickel J, Plo F, Raspopovic J, Sharpe J, Dathe K, Hecht JT, Mundlos S, Doelken SC, Seemann P.** A GDF5 Point Mutation Strikes Twice - Causing BDA1 and SYNS2. *PLOS Genetics*, 2013; 9(10): e1003846.
117. <http://www.omim.org/entry/601146>. Erişim Tarihi: 23.05.2015.
118. **Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, Yamashita H, Enomoto S, Miyazono K.** Cell biology and metabolism: Identification of type I and type II

- serine/threonine kinase receptors for Growth/Differentiation Factor-5 *J. Biol. Chem.*, **1996**; 271: 21345-21352.
119. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GDF5> Erişim Tarihi: 19.06.2015.
120. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8200> Erişim Tarihi: 20.05.2015.
121. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GDF5/f>. Erişim Tarihi: 17.06.2015.
122. **Vaes RBA, Rivadeneira F, Kerkhof JM, Hofman A, Uitterlinden AG, Meurs JBJV.** Genetic variation in the GDF5 region is associated with osteoarthritis, height, hip axis length and fracture risk: the Rotterdam study. *Ann Rheum Dis*, **2009**; 68: 1754–1760.
123. <http://pfam.sanger.ac.uk/protein/P43026>. Erişim Tarihi: 27.06.2015.
124. **Rouault K, Scotet V, Autret S, Gaucher F, Dubrana F, Tanguy D, El Rassi CY, Fenoll B, Férec C.** Evidence of association between GDF5 polymorphisms and congenital dislocation of the hip in a Caucasian population. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2010**; 18: 1144-1149.
125. **Lee HJ, Lee GH, Nah S, Lee KH, Yang H, Kim YM, Chun W, Hong S, Kim S.** Association of TIMP-4 gene polymorphism with the risk of osteoarthritis in the Korean population. *Rheumatol Int*, **2008**; 28: 845-850.
126. **Huang W, El Mabrouk M, Sylvester J, Dehnade F, Zafarullah M.** Enhanced expression of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-4 gene in human osteoarthritic synovial membranes and its differential regulation by cytokines in chondrocytes. *The Open Rheumatology Journal*, **2011**, 5, 81-87.
127. **Melendez-Zajgla J, Pozo LD, Ceballos G, Maldonado V.** Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-4. The road less traveled. *Molecular Cancer*, **2008**; 7:85.
128. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TIMP4&keywords=TIMP4> Erişim Tarihi: 01.06.2015.
129. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ADAM12>. Erişim Tarihi: 12.06.2015.
130. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TIMP4>. Erişim Tarihi: 12.06.2015
131. **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **1988**;16(3):1215.
132. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000010.11?report=fasta&from=126012385&to=126388558&strand=true. Erişim Tarihi: 02.02.2015.

133. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000020.11?report=fasta&from=35433347&to=35441387&strand=true. Erişim Tarihi: 02.02.2015.
134. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000003.12?report=fasta&from=12153068&to=12159351&strand=true. Erişim Tarihi: 02.02.2015.
135. **Barlas İÖ, Sezgin M, Erdal ME, Sahin G, Camdeviren Ankarali H, Mert Altintas Z, Türkmen E.** Association of (-1,607) 1G/2G polymorphism of matrix metalloproteinase-1 gene with knee osteoarthritis in the Turkish population (knee osteoarthritis and MMPs gene polymorphisms). *Rheumatol Int*, **2009**; 29: 383-388.
136. **Nagase H, Woessner JF.** Matrix Metalloproteinases. *The Journal Of Biological Chemistry*,**1999**; 274(31): 21491-21494.
137. **Okada AMochizuki S, Yatabe T, Kimura T, Shiomi T, Fujita Y, Matsumoto H,Sehara-Fujisawa A, Iwamoto Y, Okada Y.** ADAM-12 (Meltrin) is involved in chondrocyte proliferation via cleavage of Insulin-like Growth Factor Binding Protein 5 in Osteoarthritic Cartilage. *Arthritis & Rheumatism*, **2008**; 58(3): 778-789.
138. **Kerna I, Kisand K, Tamm AE, Lintrop M, Veske K, Tamm AO.** Missense single nucleotide polymorphism of the ADAM12 gene is associated with radiographic knee osteoarthritis in middle-aged Estonian cohort. *Osteoarthritis and Cartilage*, **2009**; 17: 1093-1098.
139. **Wang L, Guo L, Tian F, Hao R, Yang T.** Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms within ADAM12 and Risk of Knee Osteoarthritis in a Chinese Han Population. *BioMed Research International*, **2015**; ID 518643: 5.
140. **Syddall CM, Reynard LN, Young DA, Loughlin J.** The identification of trans-acting factors that regulate the expression of GDF5 via the Osteoarthritis Susceptibility SNP rs143383. *PLoS Genet*, **2013**; 9(6): 1003557.
141. **Evangelou E, Chapman K, Meulenbelt I, Karassa F B, Loughlin J, Carr A, Doherty M, Doherty S, Go´mez-Reino J J, Gonzalez A, Halldorsson B V, Hauksson V B, Hofman A, Hart D J, Ikegawa S, Ingvarsson T, Jiang Q, Jonsdottir I, Jonsson H, Kerkhof H J M, Kloppenburg M, Lane N E, Li J, Lories R J, Meurs J B J V, Na`kki A, Nevitt M C, Rodriguez-Lopez J, Shi D, Slagboom P E, Stefansson K, Tsezou A, Wallis G A , Watson C M , Spector T D, Uitterlinden A G, Valdes A M, Ioannidis J P A.** Large-scale analysis of association between GDF5 and FRZB variants and osteoarthritis of the hip, knee, and hand. *Arthritis & Rheumatism*, 2009; 60(6): 1710-1721.
142. **Shina MH, Leeb SJ, Keec SJ, Songd SK, Kweona SS, Parkb DJ, Parkb YW, Leeb SS, Kimb TJ.** Genetic association analysis of GDF5 and ADAM12 for knee osteoarthritis. *Joint Bone Spine*, **2012**; 79: 488-491.

143. **Valdes AM, Spector TD, Doherty S, Wheeler M, Hart DJ, Doherty M.** Association of the DVWA and GDF5 polymorphisms with osteoarthritis in UK populations. *Ann Rheum Dis*, **2009**; 68:1916-1920.
144. **Dodd AW, Syddall CM, Loughlin J.** A rare variant in the osteoarthritis-associated locus GDF5 is functional and reveals a site that can be manipulated to modulate GDF5 expression. *European Journal of Human Genetics*, **2013**; 21: 517-521.
145. **Ishiguro N, Kojima TK, Poole AR.** Mechanism of cartilage destruction in osteoarthritis *Nagoya J. Med. Sci.*, **2002**; 65: 73 ~ 84.
146. **Huang W, Li WQ, Dehnade F, Zafarullah M.** Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-4 (TIMP-4) gene expression is increased in human osteoarthritic femoral head cartilage. *Journal of Cellular Biochemistry*, **2002**; 85: 295-303.
147. <http://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/browse/genotyping/keyword/rs3740199?ICID=uc-snp-rs3740199>. Erişim Tarihi: 05/05/2104.
148. <http://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/browse/genotyping/keyword/rs143383?ICID=uc-snp-rs143383>. Erişim Tarihi: 05/05/2104.
149. <http://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/browse/genotyping/keyword/rs308952?ICID=search-snp-rs308952>. Erişim Tarihi: 05/05/2104.

ÖZGEÇMİŞ

19.05.1987 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlkokul eğitimini 1994-1999 yılları arasında Mersin Mehmet Fatih Deveci İlkokulunda, ortaokul eğitimini 1999-2002 yılları arasında Mersin Bahçelievler İlköğretim okulunda, lise eğitimini ise 2002-2004 yılları arasında Mersin Dumlupınar Lisesinde tamamladı.

2006-2010 yılları arasında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümündeki eğitimini tamamlayıp 2011 yılı Bahar döneminde aynı bölümde yüksek lisansa başladı. Yüksek lisans eğitimi devam ederken 2013 yılı Bahar döneminde Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) kapsamında Harran Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma görevlisi olmaya hak kazandı. Program kapsamında 2013 yılı Bahar döneminde Mersin Üniversitesi'nde görevlendirilerek, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Mersin Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa devam etmektedir.