

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZ. BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OSTEOARTRİTLİ OLGULARDA COX-2 GEN
POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Volkan Güneş GÜLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

MERSİN – 2008

**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZ. BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

OSTEOARTRİTLİ OLGULARDA COX-2 GEN POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Volkan Güneş GÜLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE BK (VGG) 2006-3 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

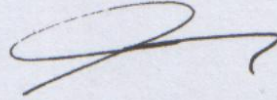
Tez No:

MERSİN – 2008

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş olan **'Osteoartritli Olgularda COX-2 Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi'** adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 30.6 / 2008

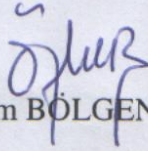


Doç. Dr. Serap YALIN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

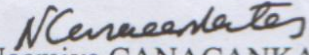


Doç. Dr. Özlem BÖLGEN ÇİMEN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



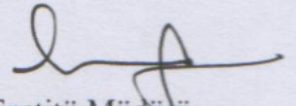
Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibarenengin bilgi ve tecrübeleri ile her konuda göstermiş olduğu yardım ve anlayış için yüksek lisans danışman hocam Sn. Doç. Dr. Serap YALIN'a;

Destekleri ile her zaman yanımda olan başta Sn. Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN olmak üzere tüm Eczacılık Fakültesi öğretim elemanlarına;

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük katkıları olan, hasta kanlarının toplanmasında ve tezime yaptıkları akademik katkılarından dolayı Sn. Doç. Dr. Özlem BÖLGEN ÇİMEN ve tüm Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı asistanlarına;

Kontrol kanlarının toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı Mersin Toros Devlet Hastanesi çalışanlarına;

Tezimin istatistikleri ve bulguların değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Yrd. Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN'e;

Hayatımın her anında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca destek, güven ve sevgileriyle yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ.....	4
2.1. Osteoartrit (OA).....	4
2.1.1. Tanımı.....	4
2.1.2. Osteoartritin Sınıflandırılması	5
2.1.2.1. Nedensel İlişkilere Göre Osteoartritin Sınıflandırılması	5
2.1.2.2. Tutulan Eklemlere Göre Osteoartritin Sınıflandırılması	5
2.1.2.3. Bazı Yandaş Özelliklerin Varlığına Göre Osteoartritin Sınıflandırılması.....	5
2.1.3. Osteoartritin Epidemiyolojisi.....	6
2.1.4. Osteoartritin Patogenezi.....	7
2.1.5. Osteoartritin Klinik Özellikleri.....	13
2.1.5.1. Ağrı	13
2.1.5.2. Eklem Tutukluğu	14
2.1.5.3. Hareket Kısıtlılığı	14
2.1.5.4. İnstabilite Hissi	15
2.1.5.5. Krepitasyon	15
2.1.6. Osteoartrit Tanısında Yardımcı Yöntemler	15
2.1.6.1. Görüntüleme Yöntemleri	15
2.1.6.1.1. Radyografi	15
2.1.6.1.2. Artrografi	15
2.1.6.1.3. Ultrason.....	15

2.1.6.1.4. Artroskopi	16
2.1.6.1.5. Sintigrafi	16
2.1.6.1.6. Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....	16
2.1.6.2. Laboratuvar	16
2.1.7. Osteoartritin Risk Faktörleri	17
2.1.7.1. Yaş	17
2.1.7.2. Cinsiyet	18
2.1.7.3. Obezite	19
2.1.7.4. Osteoporozun Olmaması.....	19
2.1.7.5. Mesleki Zorlanmalar	19
2.1.7.6. Spor Aktiviteleri	20
2.1.7.7. Eklemdeki Bozukluklar ve Daha Önceki Hasarlar	20
2.1.7.8. Kas Güçsüzlüğü	20
2.1.7.9. Fiziksel Egzersiz Azlığı	21
2.1.7.10. Propriyosepsiyon Bozukluğu.....	21
2.1.8. Osteoartritin Genetik Yönleri	21
2.2. Siklooksijenazlar (COX).....	28
2.2.1. Siklooksijenaz'ın Yapı ve Fonksiyonu	28
2.2.2. Siklooksijenaz'ın Tarihçesi.....	33
2.2.3. COX-1 ve COX-2'nin Temel Özellikleri	33
2.2.4. COX-1 ve COX-2'nin Gen Yapısı.....	35
2.2.4.1. COX-1 Geninin Ekspresyonu	38
2.2.4.2. COX-2 Geninin Ekspresyonu	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Çalışma Grubu ve Örneklerin Toplanması	41
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	41
3.2.1. Cihazlar	41
3.2.2. Kimyasal Maddeler	42
3.2.3. Kullanılan Çözeltiler.....	43
3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar	43
3.2.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar	45

3.3. Kullanılan Yöntemler	46
3.3.1. DNA İzolasyonu	46
3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	47
3.3.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi	48
3.3.4. Genotip Tayini	48
3.3.5. İstatistiksel Analiz.....	49
4. BULGULAR.....	50
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
7. KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Osteoartritin insan vücudunda en sık rastlandığı bölgeler	4
Şekil 2.2. Eklem kıkırdağındaki metabolik hemeostazın sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından kontrolü.....	10
Şekil 2.3. Osteoartritte diz eklemine yapısı.....	14
Şekil 2.4. Diz eklemine radyolojik görüntüsü.....	15
Şekil 2.5. Parmak eklem osteoartritte görülen Heberden nodülleri.....	18
Şekil 2.6. Ayakta meydana gelen Charcot eklemi durumu	21
Şekil 2.7. Kartilaj ekstrasellüler matriksin şematik gösterimi.....	23
Şekil 2.8. Eikozanoidlerin sentezi	29
Şekil 2.9. COX-1 ve COX-2 gen yapıları.....	36
Şekil 2.10. COX-1 ve COX-2 promotörlerinde bulunan düzenleyici elemanlar.....	37
Şekil 2.11. Bazı COX-2 inhibitörlerinin kimyasal yapısı.....	40
Şekil 4.1. 157 bp'lik COX-2 gen parçalarının PCR sonrasında % 2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü	52
Şekil 4.2. COX-2 G765C gen bölgesinin PCR ürününün Bsh1236I restriksiyon enzimi ile kesiminden elde edilen sonuçlar	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Osteoartrit ile ilişkili olduğu düşünülen genler, bu genlerin kodladıkları proteinler ve kromozomal bölgeleri.....	25
Çizelge 2.2. Prostaglandinler, etkili oldukları organlar ve etkileri.....	30
Çizelge 2.3. İnsanda bulunan prostaglandin çeşitleri ile 3 boyutlu ve kimyasal yapıları	31
Çizelge 2.4. Noninflamatuvar doku fonksiyonlarında COX-2'nin rolü	34
Çizelge 2.5. Selektif ve selektif olmayan COX inhibitörleri.....	35
Çizelge 2.6. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin gen yapısı	37
Çizelge 2.7. COX-1 ekspresyonu indükleyicileri.....	38
Çizelge 2.8. COX-2 ekspresyonu indükleyicileri.....	39
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyete göre yaş dağılımları	50
Çizelge 4.2. Hasta grubunda osteoartrit çeşidine göre yaş dağılımları	50
Çizelge 4.3. Hasta ve kontrol grubunda kadın erkek sayısı ve yaş ortalamaları	51
Çizelge 4.4. Tüm osteoartrit hastaları ve kontrol grubunda COX-2 G765C polimorfizmi genotip dağılımları.....	53
Çizelge 4.5. Hasta grubunda (osteoartrit tipine göre) ve kontrol grubunda COX-2 G765C polimorfizmi genotip dağılımları	54

Çizelge 4.6. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyete göre hastalığa yakalanma riskine ait odds oranları	55
Çizelge 4.7. Tüm osteoartrit hastaları ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları.....	55
Çizelge 4.8. Gonartroz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları	55
Çizelge 4.9. Lomber spondiloz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları	55
Çizelge 4.10. Servikal spondiloz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANA:	Antinükleer antikor
AP-2:	Aktive edici protein-2
BT:	Bilgisayarlı tomografi
COX:	Siklooksijenaz
CRP:	C-Reaktif protein
CRTL:	Kartilaj link protein
CRTM:	Kartilaj matriks protein
DIP:	Distal falanksal arası eklem
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
ECM:	Ekstra sellüler matriks
EDTA:	Etilendiamin tetra asetik asit
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
ER-α:	Östrojen reseptör alfa
FGF:	Fibroblast büyüme faktörü
FN1:	Fibronektin-1
FRZB:	Salgı proteini 3
FSH:	Folikül stimüle edici hormon
HRT:	Hormon replasman tedavisi
IGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IκB:	İnhibitör kappa B
IL-8R:	İnterlökin 8 reseptörü
IL-1β:	İnterlökin 1 beta
INF- γ:	İnterferon gama
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

KMY:	Kemik mineral yoğunluğu
LH:	Lüteinleştirici hormon
LPO:	Lipooksijenaz
LPS:	Lipopolisakkarit
LT:	Lökotrienler
M.Ö. :	Milattan önce
MAPK:	Mitojen aktive eden protein kinaz
MED:	Multipl epifiziyal displazi
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
MS:	Multipl skleroz
NF-IL-6:	Nükleer faktör interlökin-6
NF_κB:	Nükleer faktör kappa B
NF-p:	Nükleer faktör p
NSAİİ:	Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
OP:	Osteojenik proteinler
PDGF:	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PGE₂:	Prostaglandin-E ₂
PGs:	Prostaglandinler
PL-A₂:	Fosfolipaz-A ₂
RF:	Romatoid faktör
SDS-PAGE:	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi
SED:	Spinal epifiziyal displazi
SP1:	Stimülatör protein-1
TGF-β:	Transforme edici büyüme faktörü beta
THR:	Toplam kalça değişikliği

TIMP:	Doku inhibitör metalloproteaz
TNF-α:	Tümör nekroz faktör alfa
TPA:	Doku plazminojen aktivator
VDR:	Vitamin D reseptör
vWF:	Von Willebrand faktörü

ÖZET

Osteoartritli Olgularda COX-2 Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi

Dünya üzerinde en yaygın görülen eklem hastalığı olan osteoartrit, eklemlerde bulunan kıkırdak dokusunun yapısında bozulma ve eklem ağrısı ile karakterize bir hastalıktır.

Hücreler farklı stimuluslarla uyarıldıklarında ya da hasar gördüklerinde hücre membran lipidleri hızla biyolojik olarak aktif medyatörlere dönüşürler. Bir membran lipidi olan araşidonik asitten türeyen biyolojik medyatörler inflamasyon ve hemostazis gibi değişik fonksiyonlarda görev alırlar. Bu medyatörler başlıca lökotrienler, prostaglandinler, lipoksinler ve tromboksanlardır. Bunlara eikozanoid denir.

Prostaglandinlerin sentezini sağlayan enzim siklooksijenaz (COX)'dır. COX enziminin COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu vardır. İndüklenebilir bir enzim olan COX-2; sitokinler, tümör promotörleri ve büyüme faktörleri gibi inflamatuvar ve mitojenik uyarılar tarafından indüklenerek inflamasyonlu ve neoplastik dokularda prostaglandinlerin sentezini artırır. Osteoartrit gelişiminde önemli yeri olan kartilaj ekstrasellüler matriks ve kemik dokusu, eikozanoid yolağı ve dolayısı ile COX-2 enzimi ile yakından ilişkilidir. Bu yüzden COX-2 enzimini sentezleyen gende meydana gelebilecek değişikliklerin osteoartrit hastalığının gelişme riskini değiştirebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak osteoartrit hastalarında ve artrit geçmişi olmayan kontrol bireylerinde, COX-2 geninin promotör bölgesindeki -765G>C gen polimorfizmi sıklığı araştırılmış ve sonuçlar ki-kare ve lojistik regresyon ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak COX-2 -765G>C polimorfizmi sıklığı hasta grubunda GG, GC, CC genotipleri için sırasıyla % 48, % 34 ve % 18; kontrol grubunda ise sırasıyla % 54, % 35 ve % 11 olarak bulunmuştur. Lojistik regresyon analizi sonucunda COX-2 -765G>C polimorfizmi (GC veya CC) ile osteoartrit hastalığı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı anlaşılmıştır. (p>0,05).

Anahtar kelimeler: Osteoartrit, siklooksijenaz, genetik polimorfizm.

ABSTRACT

Assessment of COX-2 Gene Polymorphism in Osteoarthritis Cases

Osteoarthritis the most common degenerative joint disease worldwide, is characterized with the deformation of cartilage matrix and joint pain.

When the cells are stimulated with different stimulus or damaged, the cell membrane lipids are rapidly transformed into biologically active mediators. The biological mediators derived from the arachidonic acid which is a membrane lipid, play a role in such different functions as inflammation and hemostasis. These mediators are mainly leukotrienes, prostaglandins and thromboxanes. They are called eicosanoids.

The enzyme responsible for the synthesis of prostoglandins is cyclooxygenase (COX). COX enzyme has two isoforms; namely COX-1 and COX-2. Inducible enzyme COX-2 increases the synthesis of prostaglandins stimulated by inflammatory and mitogenic stimulants such as cytokines, tumor promoters and growth factors in inflammated and neoplastic tissues. Cartilage extracellular matrix and bone tissue which have a major role in generation of osteoarthritis, are closely related with eicosanoid pathway and hence, associated with the COX-2 enzyme. Thus; it is thought that the modifications which might occur in the gene synthesizing COX-2 enzyme, may change the risk for the generation of osteoarthritis disease.

In this study, -765G>C gene polymorphism frequency of COX-2 promoter region was investigated in osteoarthritis patients and the controle group without a history of arthritis by utilizing PCR and RFLP methods. The data were analysed with chi-square and logistic regression. In conclusion, the frequency of -765G>C polymorphism in patient group for GG, GC, CC genotypes was found % 48, % 34 and % 18 and in control group % 54, % 35 and % 11, respectively. It was clearly understood that there is no significant relation between COX-2 -765G>C polymorphism (GG and CC) and osteoarthritis disease upon logistic regression analysis.

Keywords: Osteoarthritis, cyclooxygenase, genetic polymorphism.

1.GİRİŞ

Lokomotor sistem hastalıkları arasında gerek yaygınlığı, gerekse de yaşam kalitesini azaltması yönünden en önemli olanı osteoartrittir. Altmışbeş yaş üzerindeki kişilerin çoğunda, yetmişbeş yaş üzerindikilerin ise % 80'inde radyolojik olarak osteoartrit saptandığı düşünülürse bu konunun önemi daha iyi anlaşılacaktır (1). Ortalama yaşam süresinin her geçen yıl biraz daha artması, bu önemi daha da arttırmaktadır. Ancak bu denli önemli olmasına rağmen osteoartrit, birçok nedenden dolayı üzerinde çalışılması zor bir hastalıktır. Hastalığın sadece eklem kıkırdağını değil, tüm eklemi (subkondral kemik, ligamanlar, eklem kapsülü, sinoviyal membran ve periartriküler kaslar) etkilemesi, diğer birçok romatolojik hastalığa kıyasla yavaş seyretmesi ve birçok örnekte osteoartrit belirtilerinin doğal yaşlanma sürecinden bilimsel olarak ayrılmasındaki güçlükler bu nedenler arasındadır (2).

Kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülen osteoartrit, kıkırdak dejenerasyonuna bağlı eklem fonksiyonunun kaybı ve eklem ağrısı ile karakterize bir hastalıktır (3). Osteoartrit yavaş ilerleyen kronik bir hastalık olup genellikle el eklemlerinde en hızlı, diz eklemlerinde en yavaş, kalça eklemlerinde ise orta hızda ilerlediği bilinmektedir (4).

Osteoartrit, eklem ağrısına neden olan kıkırdak yıkımının bir sonucudur. Normal eklemlerde her bir kemiğin ucunu sağlam bir lastik gibi kıkırdak olarak adlandırılan madde kaplar. Kıkırdak, eklem hareketi için yumuşak, kaygan bir yüzey oluşturur ve kemikler arasında yastık gibi hareket eder.

Osteoartritte kıkırdak yıkımı birkaç aşamada oluşur;

1. Kıkırdak yapısı yaşlanma ile değişmeye başlar. Böylece, kıkırdak elastikliğini kaybeder ve fazla kullanmadan ya da yaralanmadan dolayı daha kolay zarar görür. Bu değişikliklerin meydana gelme süresi ve şiddeti kalıtım, eklem travması vb. faktörlerden etkilenir.

2. Zamanla, sinoviyum adı verilen eklem içindeki yapı kıkırdak yıkımına tepki gösterir ve iltihaplanır. Bu iltihaplanma kıkırdağa daha fazla hasar veren sitokin adı verilen iltihap proteinlerinin ve enzimlerinin üretilmesine neden olur.

3. Kıkırdak yok oldukça alttaki kemik meydana çıkar ve eklem doğal şeklini kaybeder. Kemik uçları kalınlaşır ve eklemdaki yumuşak dokuların kemiğe bağlandığı kemiksi kütleler oluşur.

4. Kıkırdak yıkımının yanında, eklemdeki sıvı da hastalığın ilerlemesinde bir rol oynayabilir. Sinoviyal sıvı eklemde şok emici ve kaydırıcı olarak görev yapar ve eklemde doğru şekilde işlenmesi için gereklidir. Eklem sıvısı çoğunlukla hyaluronan olarak adlandırılan sıvımsı bir maddeden oluşmuştur. Osteoartritte hyaluronan yeterli miktarda bulunmayabilir. Eklem sıvısındaki hyaluronanın niteliğinde, bu sıvının şok emici ve koruyucu özelliğini azaltabilen bir değişiklik olabilir. Bu, eklemdeki kıkırdak yıkımının ve belirtilerinin sebeplerinden biri olabilir (5-7).

Günümüzde osteoartritin tedavisinde prostaglandinlerin sentezinde rol alan siklooksijenaz (COX) enziminin inhibitörleri sıklıkla kullanılmaktadır. Prostaglandinin prekürsörü olan araşidonik asit, hücre membranı fosfolipidlerinin içinde ester olarak bulunan 20 karbonlu bir poliansatüre yağ asididir. Prostaglandin sentezinde ilk basamak fosfolipaz A₂ ile fosfolipidlerin hidrolizi ve araşidonik asidin salınımıdır. İkinci reaksiyon ise COX tarafından katalizlenir. COX prostaglandin sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir. Bu anahtar reaksiyonda, moleküler oksijen araşidonik asidin içine katılır ve prostaglandin G₂ (PGG₂) adlı kararsız ara ürün oluşur. Prostaglandin G₂ COX'un peroksidaz aktivitesi sayesinde hızlıca prostaglandin H₂ (PGH₂) ye dönüşür. Bundan sonra spesifik izomerazlar PGH₂'yi farklı prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürür. PGH₂'den derive olan her maddenin kendine özgü önemli biyolojik aktiviteleri vardır (8,9).

COX'un COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki farklı izoformu vardır. Bu iki izoform birçok açıdan birbirinden farklıdır. COX-1 vücudun hemen her dokusunda sürekli olarak eksprese edilir. Gastrik mukozanın bütünlüğünün sürdürülmesi, böbrek kan akışının düzenlenmesi, trombosit fonksiyonları gibi normal fizyolojik fonksiyonları kontrol eden prostaglandinlerin üretiminde aracılık eder. COX-1 ekspresyonu stimuluslarla 2-4 kat artabilir, glikokortikoidlerle COX-1 düzeyleri çok az etkilenir. COX-2 ise bazal durumlarda çoğu dokuda saptanamayacak kadar az miktardadır. İnflamatuar sitokinlerle, büyüme faktörleri ve endotoksinlerle ekspresyonu pek çok hücrede (makrofaj, fibroblast, kondrosit, epitelyal ve endotel hücreleri) 10 – 80 misli artabilir. Sonuç olarak COX-2 patolojik ve inflamatuvar doku işlemlerinde rol alan, üretimi hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir maddedir. COX-2 ekspresyonunun vücutta onkogenleri, büyüme faktörlerini ve tümör promotörlerini

indüklediği gösterilmiştir. COX-2 bunun dışında bazı non-inflamatuar dokularda da eksprese edilebilir (10,11).

Gerek COX-1 gerekse COX-2'yi kodlayan genlerde polimorfizm olduğu takdirde başta kanser olmak üzere pek çok hastalığa yatkınlığın arttığı tespit edilmiştir. Replikasyon hatalarından doğan polimorfizmler, mutasyon oranlarından daha yüksek sıklıkta varyant alleller olarak bulunmalarıyla ayrılırlar. Mutasyon hastalık nedeniyken, polimorfizm hastalık nedeni değil, hastalığa yatkınlık nedenidir. DNA polimorfizmi, DNA üzerinde hastalığa neden olmayan, suskun nükleotid değişimleri olarak tanımlanırlar. İnsanları birbirinden ayıran kendilerine özgü genom özellikleri vardır. En sık görülen fark ise tek nükleotidlerde olanlardır (% 80-90). İnsan genomunda tek baz değişiklikleri çok siktir. Bazılarına göre bu sıklık her 100 baz çiftinde bir olarak ortaya çıkar (12).

Çeşitli kanser türlerinde (nazofarenks kanseri, akciğer ve alveolar karsinoma, göğüs kanseri, mide kanseri ve prostat) COX-2 gen polimorfizminin araştırılması son yıllarda üzerinde birçok çalışmaların yapıldığı oldukça güncel bir konu olmakla beraber, literatürde COX-2 gen polimorfizminin osteoartrite yatkınlığı artırıp arttırmadığı yönündeki çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Yaptığımız bu çalışmada COX-2 genindeki -765 G>C polimorfizminin osteoartrit ile ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışma COX-2 polimorfizmi görüldüğü takdirde ileride oluşabilecek osteoartritin erken teşhisine, ilaç, egzersiz ve diğer medikal girişimlere erken dönemde başlanabilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca COX-2 polimorfizminin varlığı, hastaya verilen non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) bir grubu olan COX-2 inhibitörlerinin metabolik yolağını etkilediğinden, bu durum göz önünde bulundurularak daha etkin bir tedavi protokolünün uygulanması mümkün olabilecektir.

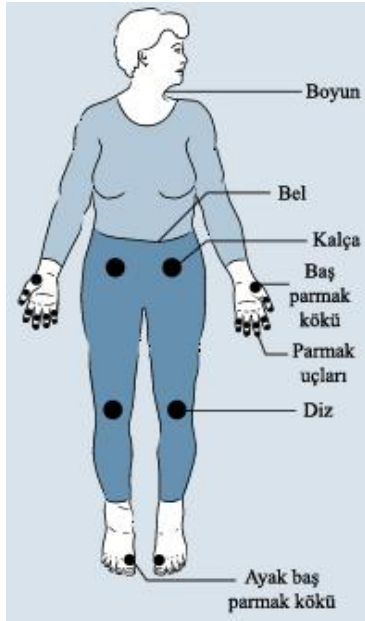
2. GENEL BİLGİ

2.1. Osteoartrit (OA)

2.1.1. Tanımı

Osteoartrit, American College of Rheumatology (ACR) tarafından eklem kıkırdağının bozulmuş yapılanması nedeniyle eklem semptomlarına yol açan, eklem kenarlarındaki kemiklerde değişiklikler yaratan durumların heterojen bir grubu olarak tanımlanmaktadır (13). Kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmekte olup, kıkırdak dejenerasyonuna bağlı eklem fonksiyonunun kaybı ve eklem ağrısı ile karakterizedir. OA tüm yaygınlığına ve yüksek orandaki sakat bırakabilme etkisine rağmen son yıllarda üzerinde durulmaya ve anlaşılmaya başlanılan bir hastalıktır. OA insan vücudunun birçok bölgesini etkileyebilmektedir (Şekil 2.1.).

Başlıca patoloji artiküler kartilajda progressif kayıptır. Buna sinovyal sıvıdaki hyalürik asitin depolimerize olması, subkondral skleroz, eklem kenarlarında osteofit proliferasyonu ve değişik oranlarda sinoviyal eşlik eder. Yaygın patolojik değişiklikler eklem konnektif dokularında, özellikle kartilaj, subkondral kemik, sinoviyum ve kapsül ile sinovyal sıvıda saptanır (14).



Şekil 2.1. Osteoartrit insan vücudunda en sık rastlandığı bölgeler.

2.1.2. Osteoartritin Sınıflandırılması

Birçok araştırmacı osteoartrit gelişiminin tek bir nedene bağlı olmaksızın multifaktöriyel olarak geliştiği tezini savunmaktadır. Osteoartrit sınıflandırması; nedensel ilişkilere, tutulan eklemlere ve bazı yandaş özelliklerin varlığına göre yapılmaktadır (15).

2.1.2.1. Nedensel İlişkilere Göre Osteoartritin Sınıflandırılması

1) Primer (İdiyopatik)

2) Sekonder

- a) Travmatik: Kırık, major travma, menispektomi sonrası
- b) İnflamatuar: Septik artrit, Romatoid artrit
- c) Biyomekanik: Slipped epifiz, Perthes, Akandropłazi, Genu vara,
- d) Metabolik-Endokrin-Depo: Gut, Okronozis, Akromegali, Hemakromatozis, Hiperparatiroidi, Wilson, Psödo gut, Hidroksiapatit,
- e) Nöropatik: Diyabet, Sifilis, Lepra,
- f) İatrojenik

2.1.2.2. Tutulan Eklemlere Göre Osteoartritin Sınıflandırılması

1) Monoartrit (Koksartroz, gonartroz, rhizartroz)

2) Oligoartriküler (Birkaç büyük eklemdede osteoartrit bulguları)

3) Poliartiküler form (Genellikle primer osteoartrit)

2.1.2.3. Bazı Yandaş Özelliklerin Varlığına Göre Osteoartritin Sınıflandırılması

- Selim tip (asemptomatik veya minimal inflamasyonla birlikte yavaş ilerler)
- İnflamatuar / Eroziv tip (akut faz reaktanları normal, inflamatuvar eklem bulguları ile Romatoid Artrite benzer)
- Hipertrofik / Atrofik tip (osteoartrit bulguları hipertrofi veya atrofiyle gider)

- Destruktif-Fulminan tip (ciddi ve hızlı eklem destrüksiyonuna yol açan osteoartrit tipi olup, özellikle 75 yaş üzeri kadınlarda, ancak nadiren görülür)
- Kondrokalsinozisle birlikte olan tip (özellikle büyük eklemlerde, kalsifikasyonun osteoartritin sekonder mi yoksa gerçek nedeni mi olduğu tartışmalıdır)
- Hızlı progressif osteoartrit (çabuk ilerler ve deformite ile sonlanır)

2.1.3. Osteoartritin Epidemiyolojisi

Osteoartrit prevalansı, araştırma yapılan popülasyonun ve tanı metodunun özelliklerine göre değişkenlik gösterir. Otopsi çalışmalarında 7. ve 8. dekadlarda ölen erkeklerin % 60'ında, kadınların ise % 70'inde eklemlerde kıkırdak erozyonlarına, subkondral kemikte dejenerasyona ve osteofitlere rastlanmıştır. Fakat bu patolojik çalışmalar ile bir klinik veya radyolojik osteoartrit prevalans verisini tahmin etmek oldukça zordur. Otopsi çalışmalarında rastlanılan hafif değişiklikler her zaman klinik ve radyolojik bulgulara yol açmaz. Bu nedenle radyolojik ve klinik prevalans genellikle daha düşük olarak saptanır (16).

Radyolojik osteoartrit prevalansı yaşla birlikte artar. Bir çalışmada 40 yaşın altındaki olgularda % 20 oranında el ve ayak osteoartrite rastlanırken, 60-70 yaş arası popülasyonda % 70 oranında el osteoartriti saptanmıştır (17). Başka bir çalışmada da 25-34 yaş arası olgularda % 1 oranında ciddi radyolojik osteoartrit bulgularına rastlanmıştır. Bu oran 75 yaş üstü popülasyonda % 35'tir (18).

Osteoartrit bazı eklemlerde cinsiyet açısından seçicilik göstermektedir. Diz ve el osteoartriti kadınlarda, kalça osteoartriti ise az da olsa erkeklerde daha fazla görülmektedir. Perthes hastalığı ve femur başı epifiz kaymasının erkeklerde daha fazla görülmesi bunda etken olarak suçlanmaktadır.

Osteoartritte insidans çalışmaları daha azdır. Bir çalışmada el osteoartriti insidansı yıllık % 4 olarak saptanmıştır (19). Mayo kliniğinde yapılan başka bir çalışmada kalça osteoartriti insidansı 47 / 100.000, diz osteoartriti insidansı ise 164 / 100.000 hasta olarak bulunmuştur (20). Yine başka bir çalışmada el, kalça ve diz osteoartriti için insidans değeri, sırası ile 100, 88, 240 / 10.000 hasta olarak saptanmıştır.

Bu lokalize osteoartrit formlarının insidanslarının yaşla birlikte artış göstermekte olduğu ve 50 yaşından sonra kadınlarda daha yüksek değerlere ulaştığı belirlenmiştir (21).

2.1.4. Osteoartritin Patogenezi

Osteoartrit ve onun patogenezi hakkındaki görüşler gün geçtikçe değişmektedir. Osteoartrit önceleri yaşlanma ile görülen kaçınılmaz bir dejeneratif hastalık olarak düşünülür ve temelindeki patogenetik mekanizmanın "aşınma ve yırtılma" olduğu söylenirdi. Şimdiki yaygınlaşan görüşe göre ise osteoartrit çeşitli biyokimyasal ve aynı zamanda mekanik olumsuzlukların tetiklediği, yıkım ve yapım reaksiyonlarını içeren aktif, dinamik bir süreçtir (22).

Osteoartritin kompleks bir patogenezi olmasına rağmen bazı alt grupları kalıtsal özellik taşır. Heberden'in, elde DIF eklemlerinin dorsal yüzeyinde oluşan ufak nodülleri tanımladığından beri kalıtsal osteoartrit fikri vardır. Bu tanımla, osteoartritli elde oluşan nodüllerin, gut hastalığı gibi diğer artrit formlarında görülen nodüllerden farklılığı belirlenmiştir (23).

Osteoartrit hangi yönüyle incelenecek olursa olsun patogenezinin anlaşılmasında aşağıdaki temel gözlemleri dikkate almak gerekir (23):

1. Osteoartritin filogenetik ve evrimsel yönü: Eski iskeletler üzerinde yapılan çalışmalar osteoartritin insan türünün var oluşundan beri mevcut olduğunu göstermiştir. İnsandaki osteoartrit süreci diartroidial eklemleri olan hayvan türlerinde de bulunmuştur.

2. Osteoartrit süreci doğasının dinamik olması: Patolojik olarak osteoartrit sıklıkla yeni kemik oluşumu, sinovyal hiperplazi ve kapsül kalınlaşmasıyla karakterizedir. Fokal hyalin kırıkta kaybı önemli bir bulgu olmasına rağmen kondrositler, en azından başlangıçta sayılarını ve aktivitelerini artırır. Yeni kırıkta oluşumu ve eklem kenarlarında osteofit oluşturmak için enkondral kemikleşme başlaması ve sinovyal zarda osteokondral yapım şeklinde aktivitelerini gösterirler.

3. Osteoartritte yapısal değişiklik, fonksiyonel yetersizlik ve semptomlar arasında uyumlu ilişki olmaması: Osteoartrit' deki klinik ve radyolojik bulgular hiç bir belirti vermeden veya fonksiyonel kayıp görülmeden bulunabilirler. Bu, özellikle en sık olarak ellerde olmasına rağmen, büyük yük binen eklemlerde de görülür.

4. Semptomatik osteoartritli birçok vakada klinik olarak iyi sonuçlar görülmesi: Osteoartrit kişilerde dramatik klinik tablolara yol açmasına rağmen, sürekli ilerleyici bir hastalık olarak düşünülemez. Birçok osteoartrit hastasında semptomların alevlenme döneminden sonra ağrı ve eklem katılığı yavaş yavaş azalır. Bu klinik tablo el eklemlerindeki nodal osteoartrit de çok daha iyi gözlenmesinin yanında kalça ve diz eklemlerinde de gözlenir. Osteoartrit’de semptomlar kaybolsa bile yapısal değişiklikler kalıcıdır. Hyalin kıkırdağın tekrar oluşması mümkün olmamasına rağmen, bazı radyografilerde eklem aralığında artma görülebilir, bunun sebebi ise kemik sınırlarındaki yeniden yapılanma ve sınırlı fibrokartilaj oluşumudur.

Yukarıdaki gözlemler osteoartritin eklem yıkımı ve kıkırdak harabiyeti sürecine karşı oluşmuş potansiyel bir yapım süreci olduğu görüşünde uzlaşmaktadır. Farklı yıkım reaksiyonları yapım gereksinimini tetiklemektedir. Eklem kıkırdağının harabiyeti matriksteki çeşitli bileşenlerin yıkım ve sentez süreçleri arasındaki dengesizlikler sonucu meydana gelmektedir. Burada söz konusu olan mekanik ve hücrel faktörlerin karıştığı multifaktöriyel bir fenomendir.

Osteoartrit sürecinde hiperpresyon etkisi altında, kıkırdakta sıklıkla yüzeyden başlayan, derinlere kadar uzanan çatlaklar (fissür) oluşur. Matriksteki bu çatlaklar proteoglikanların yayılmasına ve kıkırdakta ödeme (yumuşama fenomeni) yol açan hiper hidrasyonun gelişmesine (kondromalazi), daha sonra kollajen liflerden oluşan ağ yapısında yer yer kopmalar oluşmasına sebep olur. Buna karşın, proteoglikan tutulumunda bir azalma gözlenir (24).

Son bilgilere göre bu erken dönemde, kıkırdaktaki sitokinlerin arttığı belirlenmiştir. Bu aşamada sitokinler, proteazları aktive ederek matriks proteinlerinin azalmasını kontrol etmektedirler. Erken dönemi, hızlı ve geçici olarak tamir edici faktörlerin sentez mekanizmalarını uyardığı bir dönem takip eder. Buna rağmen tamirat yetersizdir çünkü yeni sentez edilen proteoglikanların yapım gücü çok zayıftır (25).

Kıkırdak harabiyeti ilerlediği dönemde kıkırdak fragmanları eklem içine salınır ve ikincil sinovitle beraber bir eklem inflamasyonu sürecinin kaynağı olur. Böylece kıkırdak yavaş yavaş biyomekanik özelliklerini kaybeder. Bir kez yıkım başlayınca, eklemdaki bütün dokular adaptasyon cevabı olarak bu sürece katılırlar (26).

Yetişkinlerdeki eklem kıkırdağı, kondrositlerin ve yoğun proteoglikandan oluşan kollajen liflerin bulunduğu proteik matriksten oluşmuştur. Proteoglikanların kondrotin

sülfat ve keratan sülfat zincirlerinin bağlı olduğu taşıyıcı proteinlerden oluşan alt birimleri vardır. Bu alt birimler agregatları, özellikle de hyalürik aside bağlanarak ağır agregan moleküllerini oluştururlar. Glikozaminoglikan polianionik zincirinin konsantrasyonunun artması, osmotik basınçta önemli bir değişiklik yaparak su moleküllerinin doku içine girmesini sağlar. Normal eklem kıkırdağındaki kondrositler çok az bölünür veya hiç bölünmez (27,28).

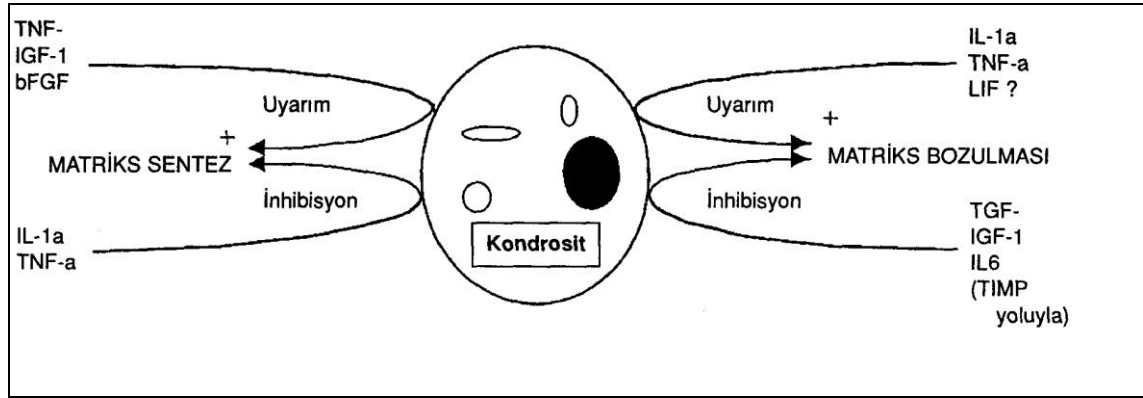
Proteoglikanların sürekli yenilenmesine karşın kollajen ağı çok az yenilenebilmektedir. Çünkü proteoglikanların, bir yanda kondrositler tarafından sürekli sentez edilmesi ve diğer yandan ekstrasellüler matrikste bozulmasıyla konsantrasyonları sürekli aynı düzeyde kalır. Uzun süre yetişkin eklem kıkırdağındaki kondrositlerin atıl hücreler olduğuna inanılıyor, metabolik aktivitelerinin de kısıtlı olduğu zannediliyordu. Yeni bilgiler kondrositlerin ileri düzeyde aktif olduklarını ve kıkırdağın metabolik homeostazından sorumlu olduklarını göstermektedir (29).

Osteoartritte ilk lezyonlar sık olarak kıkırdak dokusunun yumuşaması şeklinde (kondromalazi) eklem kıkırdağının yüzeyinde başlar. Kondrositlerin, insan kıkırdağının ekstrasellüler matriksinin sentez ve yıkım dengesiyle ilgili rolleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Osteoartrit, kıkırdak matriksinde meydana gelen bir lezyonla başlar. Kondrositler başlangıçta kıkırdak matrikste oluşan lezyonu onarıcı eğilim gösterirler. Lezyona cevap olarak başlangıçta aktifleşmiş kondrositler çoğalır ve bunlar da matriks ürünlerinin (kollajen ve proteoglikan) sentezinin artmasını sağlar. Buradaki durum kıkırdak yıkımını durdurmaya çalışan ama yetersiz olan kompensatör fenomendir (30).

Katabolizma, anabolizmanın önüne geçer, kondrositlerin metabolik özellikleri kıkırdağın çeşitli düzeylerinde farklılıklar gösterir. Kıkırdak matriksteki yıkım ve sentez etkileri yüzey tabakada ve kemiğe yakın kıkırdak bölgesinde farklılık gösterir.

Kondrositler ve sinovyal hücreler matriks moleküllerinin (kollajen, fibronektin, hyaluronan) yıkımını aktifleyen enzimleri salgırlar. Bunlar metalloproteazlar olup, en önemlileri kollajenaz ve stromelazindir. Metalloproteazların biyolojik aktiviteleri fizyolojik faktörler (aktifleşici veya inhibe edici) tarafından kontrol edilir. İnhibitör sistem, özellikle metalloproteazların doku inhibitörleri (TIMP) tarafından oluşturulur. Aktivasyon faktörleri komplekstir ve plazminojen-plazmin sistemi tarafından oluşturulur (31).

Ekstrasellüler matriksin bütünlüğü, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) gibi büyüme faktörleriyle, interlökin-1 beta (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi sitokinlerin karşılıklı etkileşimleriyle dengeli olarak sağlanır. Büyüme faktörleri (IGF, TGF- β), kollajen ve proteoglikanın sentez ve salgılanmasını kontrol ederken sitokinler (IL-1 β , TNF- α) matriksteki proteinleri bozarak metalloproteaz üretimini artırır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Eklem kıkırdağındaki metabolik hemeostazın sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından kontrolü.

Bu sistem gerçekte çok daha karmaşıktır çünkü kondrositler aynı zamanda TIMP gibi metalloproteaz inhibitörleri veya IL-1, TNF- α sitokinlerini inhibe eden maddeleri üretirler. Sitokinleri inhibe eden bu maddeler, IL-6, IL-10, çözünebilir TNF- α reseptörlerinin (sTNF-R) fraksiyonları (p55, p75), IL-1 reseptörlerinin çözünebilir fraksiyonları (sIL-IRI, sIL-IRII), IL-1 reseptörünün antagonistleri (IL-IRA) ve doğal otoantikorlarıdır (anti-IL-1- α). Diğer yandan, bazı proteoglikanların bFGF, TGF-p gibi çeşitli büyüme faktörlerini, IGF'e bağlı proteinleri ve aynı zamanda çeşitli immün kompleksleri bağlama özellikleri vardır. Kıkırdak, kanlanması olmayan bir doku olduğundan, matriksinde ekstrasellüler matriksin sentez ve bozulma dengesini değiştirebilecek bazı faktörleri depo edebilir.

IGF-1 veya osteojenik proteinler (OP) gibi bazı anabolik medyatörler kıkırdak hemostazında rol oynarlar. Kemik matriksinden arındırılan osteojenik protein-1 (OP-1) kemik formasyonunu stimüle ettiği gibi kıkırdak yapım mekanizmasını da stimüle eder. Artrozlu eklemlerde OP-1'in mRNA varlığı artar. Buna karşın artrozlu dokuda OP prekürsörü olan pro-OP-1 yüksek miktarda olmasına rağmen, OP-1 miktarı azdır. OP-1'in olgun formu yüzeysel tabakalarda önemli miktarda olmasına karşın prekürsörleri

derin tabakalarda bulunur. Bu proteinin (OP-1) kırıkdam tamirinin başlangıç sürecine katıldığı sanılmaktadır (31).

Normal ve patolojik kondrosit metabolizmasının düzenlenmesiyle ilgili olarak, doğrudan kırıkdamla ve kondrosit kültürleriyle 3 boyutlu yapılan son araştırmalarda, dinamik kompresyonun agregan, tip II kollajen ve mRNA üretimini aksatabileceği gösterilmiştir. Bu deneysel model aynı zamanda hücrel apoptoz olayının temelinde, kırıkdamın fiziksel lezyonlarının olduğunun gösterilmesinde öncü olmuştur. Kondrositin hücrel apoptozu, ekstrasellüler matriksin harabiyetinden önce olur ve kırıkdam harabiyetinin en erken mekanizmasını oluşturabilir (31).

Kondrosit apoptozu kırıkdamın gelişmesinde ve yıkımında önemli rol oynar. Son çalışmalar göstermiştir ki, indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS); IL-1, TNF- α veya lipopolisakkaritlerin stimüle ettiği artrozlu kondrositler tarafından sentez edilmekte ve iNOS, nitrik oksit (NO) üretimini stimüle edebilmektedir.

Kondrositlerde NO tarafından indüklenen apoptozisin kırıkdam yıkımında özellikle de akut artroz fazında çok önemli rol oynadığı söylenebilir. Deneysel araştırmalarda iNOS'un selektif inhibisyonunun artrozun gelişimini yavaşlattığı görülmüştür. NF- κ B (Nükleer Faktör Kappa B) iNOS'un mRNA'sının transkripsiyonunda da etkilidir. NF- β 'nin *invivo* inhibitörlerinin araştırılması (örneğin anti- NF- β veya N-asetil-L-sistein gibi) anti artrozik yeni maddelerin bulunmasına yol açacaktır (32).

Osteoartrit ile ilgili olarak çeşitli genetik çalışmalar yapılmıştır. Kondrositlerin büyüme faktörlerine olan cevabı büyük ölçüde onu çevreleyen matriksden ve oluşan değişimlerden etkilenmektedir (32,33). Bunun yanında, yaşlılıkta ve osteoartritin başlamasıyla kondrositlerin IGF-1'e olan cevapları kaybolurken, TGF- β 'ya olan cevabı artmaktadır (34,35). Eklem kondrositlerine büyüme faktörü genlerinin *invitro* olarak transfer edilmesi, ortamda IL-1 sitokini olsa bile, matriks sentezini büyük ölçüde artırır. IGF-1 geninin transferi kırıkdam hasarı olan gençlerde uygulanabilir (36).

Fiziksel agresyonlara kondrositlerin cevabı eklemde eklem değişebilir. Alt ekstremitelerde gonartroz sık olarak görülmesine karşın, mekanik özellikleri benzerlik gösteren ayak bileği eklemde istisnai olarak görülür. Bir hipoteze göre eklemlerdeki bu seçici tutulum insan evrimiyle ilişkilidir (37).

Bunun yanında, kadavra üzerinde sağlam eklemlerde yapılan çalışmalar bu eklemlerdeki kıkırdak metabolizmasının, biyokimyasal bileşiminin ve biyomekanik özelliklerinin farklı olduğunu göstermiştir. Kondrositler interlökin-1 veya fibronektin fragmanlarıyla stimüle edildikten sonra, metalloproteazların üretimi ve kıkırdak matriksin yıkımını artırmaktadırlar. Diz eklemdeki kondrositler ayak bileğindeki göre daha çok duyarlıdır ve önemsiz uyarılara bile cevap vermektedirler. Bu olay dizdeki kondrosit yüzeyinde IL-1 reseptörlerinin çok fazla olması ve ayak bileği kıkırdağında IL-1 antagonistlerinin olmasıyla açıklanabilir. Ayak bileği kıkırdağı proteoglikandan ve kollajen liflerden zengindir ve su konsantrasyonu azdır. Bu farklılıklar bu iki eklemden osteoartritin değişik şekillerde görülüşünü açıklayabilir (38).

Osteoartrit sürecinde, eklemdeki inflamatuvar reaksiyon ve genellikle kıkırdak bozulması, kıkırdak matriksindeki yıkım maddelerinin eklem içine salınmasından sonra sekonder olarak ortaya çıkar. Artrozun akut kriz döneminde, sinovyal sıvının hacmi ve içeriğindeki inflamatuvar medyatörlerin (eikosanoid) miktarı artmakta ve bu esnada fosfolipaz-A₂ (PL-A₂) aktivite oranı da yükselmektedir (38). Muhtemelen, eklemlerde inflamasyon medyatörleri öncelikle kondrositlerden, ikincil olarak da sinoviosit veya immuno-kompetan hücrelerden ortaya çıkmaktadır.

Kondrositlerin inflamasyon medyatörlerini ve prostaglandin-E₂'yi (PGE₂) salgılama potansiyellerinin pro-inflamatuvar sitokinlerden daha düşük olduğu uzun süredir bilinmektedir. Kondrositler eikosanoidlerin sentezinde gerekli enzimler olan PL-A₂ ve siklooksijenaz'a sahiptirler.

Birçok hücrede olduğu gibi, kondrositler tarafından hücre zarındaki fosfolipidlerin üretilmesi başlangıçta bir uyarıya veya PL-A₂ aktivitelerinin artmasına bağlıdır. Son yıllarda birçok PL-A₂ tanımlanmıştır. Kondrositlerde belirlenen sitozolik-PL-A₂'nin (CPL-A₂) yapısal aktivitesi proinflamatuvar sitokinler tarafından düzenlenmemekle beraber salgılanan PL-A₂'nin (sPL-A₂) aktiviteleri inflamatuvar özellikleri çağrıştırmaktadır ki zaten tavşan kondrositleriyle yapılan deneylerde de sPL-A₂'nin IL-1 tarafından uyarıldığı belirlenmiştir (39).

sPL-A₂ uyarılması, araşidonik asidin kondrositlerden salgılanmasıyla paralellik arz eder ki bu da bahsedilen iki fenomen arasındaki ilişkiyi düşündürmektedir. IL-1'in bu etkisi COX-2'nin hiperaktivitesine ve PGE₂ sekresyonunun artmasına eşlik eder. Bu olaylar silsilesi insan sinoviositlerinin kültürüyle yapılan deneylerde biraz farklılık

göstermiştir. İnsan sinoviositlerinde IL-1'li ortamda CPL-A₂'de artma olmasına rağmen sPL-A₂'de belirgin bir değişiklik olmaması ilgi çekicidir (40). Bu durum, bahsedilen enzimlerin sentezinde ve medyatörlerin sentezinin çok hassas bir şekilde ayarlanabilmesinde özelleşmiş bir doku olabileceğini düşündürmektedir.

Neticede, IGF-1'in anti inflamatuvar etkisinin olabileceği zannedilmektedir. IL-1'in dış deneysel ortamda kondrositler aracılığıyla sPL-A₂ sentezini inhibe etmesi PGE₂ üretimini olumlu etkiler. IGF-1 ise IL-1'in bu inflamasyon yönündeki etkisine karşıdır (41). Bu büyüme faktörü, artrozlu eklemlerde bulunur ve olaylara çeşitli aşamalarda olumlu olarak katılabilir.

2.1.5. Osteoartritin Klinik Özellikleri

Osteoartrit, birçok farklı özelliklerle karşımıza çıkan, heterojen bir semptomatoloji gösterir. Patolojik veya radyolojik osteoartrit saptanan eklemlerin birçoğunda semptom yoktur. Klinik semptom olan hastalarda, şikâyetler genellikle yavaş yavaş ve sinsi olarak ortaya çıkar. Hastalar semptomların başladığı zamanı kesin olarak belirleyemezler. Zaman zaman meydana gelen eklem ağrısı ve tutukluğu herkesin hissedebileceği yakınmalardır. Bu da hastaların zamanında hekime başvurmasını geciktirebilir. Ağrıların sıklığı arttıkça ve artık belli bir eklemde lokalize olmaya başladıkça, kişi hastalığının farkına varabilir ve doktora başvurduğunda da patolojik süreç ilerlemiş olabilmektedir (42).

2.1.5.1. Ağrı: Hareket ağrısı osteoartritin en önemli semptomudur. Bazı hastalar ağrıyı iyi lokalize edebilirlerken, bazıları daha kunt bir ağrıdan yakınır. Ağrı eklemde kullanıldığında izleyen saniye veya dakikalarda ortaya çıkar, aktivitenin sonlanmasından sonra da uzun bir süre devam eder. Genellikle günün ve çalışma haftasının sonuna doğru şiddetlenir. Hastaların hemen hemen tamamında hareket ağrısı vardır. Hastaların % 50'si istirahatte de ağrının devam etmesinden, % 30'u ise gece ağrısından yakınır. Uykusuzluğa sebep olacak kadar ciddi olması nadirdir. Sadece eklemde değil, çevre dokularda da hassasiyet hissedilebilir. Kadınlarda hastalık daha ciddi seyreder ve dolayısı ile ağrı daha fazladır. Anksiyete ve depresyon gibi psikojenik faktörler de ağrıyı

arttırlar. Ağrı ile radyolojik bulgular arasında genellikle iyi bir korelasyon yoktur. En iyi korelasyon kalça osteoartritte, en kötüsü ise el osteoartritte gözlenir (43).

2.1.5.2. Eklem Tutukluğu: Osteoartritli birçok hasta eklemlerini harekete geçirmedeki zorluktan şikayet ederler. Bu eklem tutukluğunun en önemli özelliği inaktivite sonrasındaki pelteleşme hissidir. Bu his genellikle birkaç dakika kadar sürer. Hasta sabahları ilk işinin bu pelteleşme hissini açmak için eklemi harekete geçirmek olduğunu ifade edebilir. Sabah tutukluğu daha da uzun sürebilir ama nadiren romatoid artritteki gibi 30 dakikayı aşar. Eklem çevresinde inaktivite sürecinde hyaluronat birikiminin bu semptomu ortaya çıkardığı düşünülmektedir.

2.1.5.3. Hareket Kısıtlılığı: Osteoartritte eklemlerde hareket kısıtlılığına sıklıkla rastlanır. Hareketin sonunda genellikle ağrı vardır. Osteofitler (kemiklerde patolojik olarak meydana gelen çıkıntı şeklindeki oluşumlar), kapsül kalınlaşması ve eklem yapısının bozulması hareketi kısıtlayan etmenlerdir (Şekil 2.3., 2.4.).



Şekil 2.3. Osteoartritte diz eklemine yapı.



Şekil 2.4. Diz eklemine radyolojik görüntüsü. Solda normal bir diz eklemine radyolojik görüntüsü. Sağda primer OA sonrası diz eklemine dejenerasyon.

2.1.5.4. İnstabilite Hissi: Hastaların birçoğu hasta eklemlerinden kaynaklanan güvensizlik hissinden yakınır. Sanki eklemlerine hâkim olamamak gibi bir sorunları vardır. Bu hastalarda her zaman ligaman laksitesi ve belirgin kıkırdak yıkımı saptanamaz. Bu semptomun mekanik bozukluklardan çok, kas kuvveti kaybına bağlı olduğu düşünülmektedir.

2.1.5.5. Krepitasyon: Genellikle patellofemoral artrit kaynaklanan kulakla duyulabilen veya yalnızca hasta tarafından hissedilen sürtünme sesidir. Krepitasyon osteoartritin diğer patolojilerden ayrımını sağlayan önemli bir bulgudur. Olasılıkla bu semptom düzensiz eklem yüzeyinin hareketi ile ortaya çıkmaktadır. Sinovyal sıvıdan kaynaklanan gaz baloncuklarının kavitasyonu da bu semptomun oluşmasına katkıda bulunmaktadır (44).

2.1.6. Osteoartrit Tanısında Yardımcı Yöntemler

2.1.6.1. Görüntüleme Yöntemleri

2.1.6.1.1. Radyografi: Osteoartritteki en önemli görüntüleme aracıdır. Oldukça pratik ve ucuz bir yöntemdir.

2.1.6.1.2. Artrografi: İnvazif olması nedeni ile kullanımını sınırlı kalmıştır.

2.1.6.1.3. Ultrason: Bu yöntem ucuz olması ve hastaların radyasyona maruz kalmaması sebebiyle tercih edilmektedir.

2.1.6.1.4. Artroskopji: Kıkırdaktaki değişiklikleri erken gösterebilmesi açısından önemlidir. Ancak invaziv ve pahalı bir teknik olması nedeni ile kullanımı sınırlıdır.

2.1.6.1.5. Sintigrafi: Bu yöntem, kemik ve sinovyumdaki fizyolojik değişikliklere oldukça hassastır. Kemik ve yumuşak dokudaki kan akımı ve perivasküler ödem hakkında çok yararlı bilgiler verir. Kemik mineral döngüsü konusunda da aydınlatıcıdır. Görüntüleme için madde verilmesi ve uzun görüntüleme zamanı olması yöntemin dezavantajıdır (45).

2.1.6.1.6. Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Radyografilerde görülemeyen bazı yapılar ve patolojiler bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme kullanılarak tespit edilebilir.

2.1.6.2. Laboratuvar

Primer osteoartritte spesifik laboratuvar bulgusu yoktur. Sedimantasyon hızı, kan sayımı, idrar analizi ve kan biyokimyası normaldir. Sinovit sonucu C-reaktif proteinin (CRP) kantitatif değerlerinde hafif artmalar saptanabilirse de genellikle normal olarak tespit edilir. Benzer şekilde antinükleer antikolar (ANA), romatoid faktör (RF) ve kompleman bileşenlerinin de serum seviyeleri normaldir. Bu laboratuvar bulguları, artrit oluşturan diğer hastalıklardan ve metabolik bozukluklardan ayırt etmesi ve tanıya yardımcı olması açısından önem taşımaktadır.

Sinovyal sıvı noninflamatuar karakterdedir. Soluk sarı renkte ve berraktır. Mononükleer hücre ağırlıklı, az sayıda lökosit bulunur. Sıvının viskozitesi normaldir. Alınan sinovyal sıvı fazla ise hastalık progresyonunun daha kötü olacağı düşünülmektedir.

Kıkırdak ve subkondral kemikte yıkım ve onarımla giden dinamik döngü sonucu bazı maddeler sinovyal sıvıya, kana ve idrara geçebilir. Bunlar biyokimyasal ve immünolojik tekniklerle ölçülebilir. Bu biyokimyasal markırlar osteoartrit araştırmalarında önem taşıyan; matriks degradasyonu, agregan ürünleri, kıkırdak oligomerik matriks proteinleri, tip I ve tip II kollajen kroslinkleri, tip II kollajen

epitopları, proteazlar ve peptid bağlantıları, matriks sentezi, agregan neopeptidleri, kollajen propeptidleri, CRP ve sitokinlerdir (46).

2.1.7. Osteoartritin Risk Faktörleri

Toplumlar bulaşıcı hastalıklar ve beslenme bozuklukları gibi sorunları aştıkça osteoartrit gibi yaşa bağlı hastalıklar giderek daha fazla önem kazanmaya başlamış ve hatta en önemli toplum sağlığı sorunlarından biri haline gelmiştir. Osteoartrit önceleri yaşlanmanın doğal bir sonucu olarak düşünülmekte ve bu nedenle dejeneratif eklem hastalığı olarak isimlendirilmekteydi. Ancak hastalıkta dejenerasyonun yanında onarım mekanizması da önemli yer tutmaktadır. Osteoartrit aslında eklem çevresi yumuşak dokularda, eklem kıkırdağında ve subkondral kemikte yıkım, onarım ve inflamatuvar proseslerin yer aldığı dinamik bir süreçtir. Osteoartrit gelişiminde kalıtsal faktörler de etkili olmakla birlikte hastaların çoğunda yaşlanma, mesleki travmalar ve tekrarlayan küçük travmalar rol oynar.

Osteoartrit, yaşla arttığı ve değişik eklemlerde değişik oranlarda görüldüğü için risk faktörlerini saptamak oldukça zordur ve etiyojisi tutulan bölgeye göre değişiklik gösterir. Örneğin kalça ve diz osteoartritin risk faktörleri birbirinden farklıdır.

Diz ekleminde de patello-femoral eklem, tibio-femoral eklemden farklılık gösterir. Patellofemoral eklem osteoartriti daha çok aile öyküsü ve elin nodal osteoartriti ile ilişkili iken; tibiofemoral eklem osteoartriti özellikle şişmanlık ve dize uygulanan daha önceki cerrahi girişimlerle ilişkili bulunmuştur (47).

2.1.7.1. Yaş

Yaş osteoartritle kuvvetli bağı olan bir risk faktörüdür. Osteoartrit 25-34 yaş arası % 0,1 oranında görülürken, 65 yaş sonrası bu oran % 80'lerin üstüne çıkmaktadır (48). İsveç'te 35-54 yaşları arasındaki kişilerde yapılan bir çalışmaya göre insanların % 1,5'inde kronik diz ağrısı ve radyografide tibiofemoral osteoartrit bulgusu saptanmıştır. Benzer bir çalışma Almanya'da 45-49 yaş arası kişilerde diz eklemi semptomlarına bakılmaksızın yapılmış ve % 7,7-14,3 gibi daha yüksek oranlar bulunmuştur.

Patellofemoral eklem tutulumu yaşla birlikte artış gösterir. Kalça eklemi 50 yaş öncesi nadiren etkilenir. Bu yaş sonrası oran Avrupa için % 3-5'tir. Parmak eklem osteoartriti (DIF ve PIF eklemlerindeki Heberden ve Bouchard nodülleri) 40-50 yaşlarında sık görülür ve 70 yaşlarında kadınların % 90'ında osteoartritin radyografik bulguları saptanır (Şekil 2.5.) (47).



Şekil 2.5. Parmak eklem osteoartritiinde görülen Heberden nodülleri.

2.1.7.2. Cinsiyet

Kadınlar erkeklere oranla daha fazla osteoartrit riski taşırlar. Yaş, kilo ve sigara gibi diğer riskler için gerekli düzenlemeler yapıldığında kadınların yaklaşık olarak 2,6 kat daha fazla osteoartrit riski taşıdıkları saptanmıştır. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte hormonlar, genetik yapı ya da diğer nedenler etkili olabilir. Kadınlarda menopoş öncesinde aşırı miktarda östrojen bulunması osteoartrit gelişme riskini artırırken, menopoş sonrası östrojen replasman tedavisi osteoartrit gelişme riskini azaltır. Yapılan bir çalışma kadınların yüksek topuklu giymesi durumunda patellofemoral ekleme ve dizin medyal kompartmanına % 23 daha fazla kompresif yük bindiğini göstermiştir (48).

2.1.7.3. Obezite

Obezite osteoartrit için değiştirilebilir risk faktörlerinden en sık görülenidir. Obezitenin osteoartritte risk faktörü olması ekleme göre değişkenlik gösterir. En fazla ilişki diz, el ve kalça eklemindedir. Diz ve kalçada bunun mekanik yüklenme sebebiyle olduğu tahmin edilmektedir. Orta derecede bir kilo verilmesi bile osteoartrit riskinde azalmaya yol açar (48).

2.1.7.4. Osteoporozun Olmaması

Kemik kitlesi değerlerinin normal sınırların üzerinde olması, yaşlı kadınlarda kalça osteoartriti için bir risk faktörüdür. 65 yaş ve üzeri 4855 kadın hastanın röntgen bulguları kemik mineral yoğunluğu (KMY) ile karşılaştırılmış ve osteoartritli kadınların KMY normale göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bazı çalışmalarda osteoporozun önlenmesine yönelik hormon replasman tedavisi (HRT) uygulamasının osteoartrit oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir. Ancak bu sonuç HRT'nin osteoartrit riskini arttırmadığını, aksine azalttığını bildiren çalışmalarla doğrulanmamıştır (49).

2.1.7.5. Mesleki Zorlanmalar

Osteoartrit ile meslekler arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma vardır. Özellikle yoğun iş gücü gerektiren tekstil işçileri, gemi çalışanları ve marangozlar risk altındadır. Meslek değiştirmenin bu riski azaltıp azaltmadığı konusunda kesin veriler yoktur. Meslek-osteoartrit arasındaki bağın mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte eklemlerin aşırı yüklenmesi ve zaman içindeki tekrarlayan travmalar osteoartrite yol açabilir. Bazı mesleklerde sık olarak çömelip doğrulmanın diz osteoartriti gelişimine yol açabileceği bildirilmiştir. Uzun süreli olarak dizin bükülü kalmasının, diz ekleminde mekanik yüklenmeyi arttırdığı bildirilmektedir. Bir çalışmada en az bir yıl süreyle tarım işçisi ya da inşaat işçisi olarak çalışanlarda daha fazla kalça osteoartriti geliştiği gösterilmiştir (49).

2.1.7.6. Spor Aktiviteleri

Bazı sporların belirli bazı eklemlerde osteoartrit gelişimini hızlandırdığı ileri sürülmektedir. Bunlardan başlıcaları şunlardır:

- Güreş: Servikal vertebra, diz, dirsek
- Boks: Karpometakarpal eklemler
- Beyzbol: Omuz, dirsek
- Bisiklet: Patellofemoral eklem
- Paraşüt: Omurga, diz, ayak bileği
- Kriket: Parmaklar
- Jimnastik: Omuz, el-bilek, dirsek
- Bale: Talar eklemler
- Futbol: Diz, ayak bileği, ayak

2.1.7.7. Eklemdeki Bozukluklar ve Daha Önceki Hasarlar

Kalça ekleminde epifiz kayması ve Perthes hastalığının osteoartrit için predispozisyon oluşturduğu uzun süredir bilinmektedir. Bazı çalışmalarda kalça displazisinin hafif formlarının da osteoartrit gelişimi riskini artırdığı bildirilmiştir. Ligaman ya da menüsküslerde daha önceden oluşmuş hasarların ve geçirilmiş meniskektomi (diskin tamamen çıkarılması) operasyonlarının diz osteoartriti riskini arttırdığı gösterilmiştir (49).

2.1.7.8. Kas Güçsüzlüğü

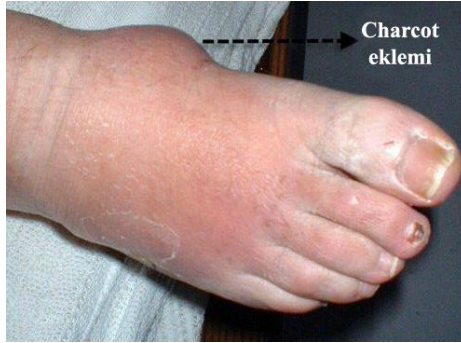
Kuadriseps kasında zayıflık osteoartritli hastalarda oldukça sık görülür. Buradan yola çıkılarak yapılan çalışmalarda kuadriseps kasındaki zayıflığın bazı hastalarda osteoartritin başlamasında ve hızlanmasında etkili olduğu saptanmıştır (49).

2.1.7.9. Fiziksel Egzersiz Azlığı

Uygun ve yeterli egzersiz yapılmadığında nöroanatomik olarak normal olan eklemlerde bile osteoartrit gelişme riski artar. Tekrarlayan hafif rekreasyon (yenilenme, yeniden yapılanma) egzersizlerinde osteoartrit gelişme riski artmaz, aksine azalır. Nöroanatomik yapısı bozuk olan eklemlerde ise tekrarlayan hafif egzersizler bile osteoartrit gelişme riskini artırabilir (49).

2.1.7.10. Propriyosepsiyon Bozukluğu

Gonartrozlu olan bazı hastalarda propriyosepsiyon (kişinin pozisyon hissi) duyusunda bozulma olduğu bildirilmiştir. Bu genel bir propriyosepsiyon bozukluğu olmayıp, eklem içi ya da çevresindeki reseptörlerdeki bir hasardan dolayıdır (50). Charcot eklemi bunun klasik bir örneğidir (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Ayakta meydana gelen Charcot eklemi durumu.

2.1.8. Osteoartritin Genetik Yönleri

Osteoartritin etiyopatogenezinde genetik yatkınlık ve çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Genetiğin osteoartrit gelişimindeki rolü, ilk kez 1940'ta Stecher tarafından, Heberden nodüllerinin cinsiyet ve aile hikâyesi ile ilişkisi gösterilerek gündeme getirilmiştir. Stecher, Heberden nodülü bulunan 64 kadının kız kardeşlerinde bu nodüllerin genel toplumdakine oranla 3 kat daha fazla olduğunu rapor etmiştir.

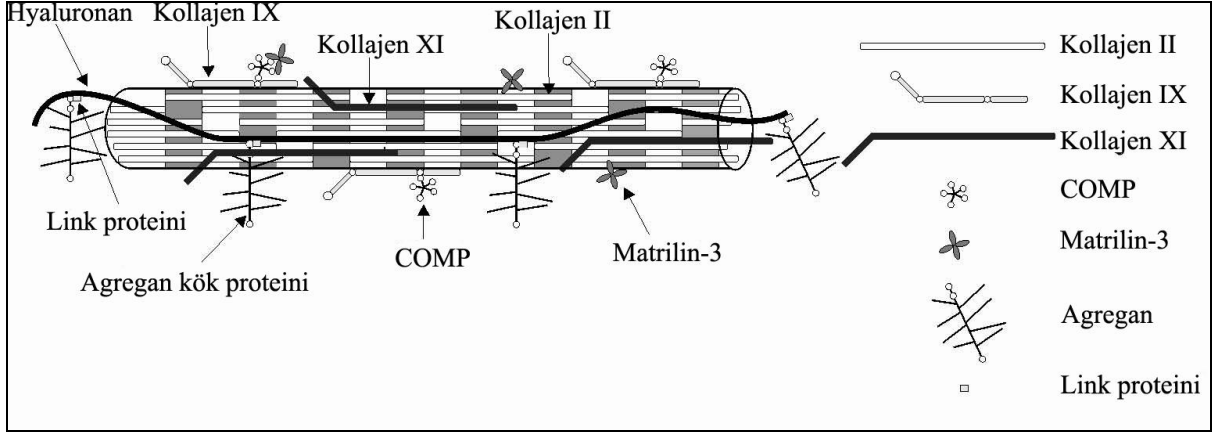
Primer osteoartrit, kalıtsal olarak en sık görülen şeklidir. Heberden ve Bouchard nodülleri ile birlikte birçok eklemden kıkırdak dejenerasyonu ile karakterizedir.

Kıkırdak dokusu sinir, lif ve damarlardan yoksun bir doku olup, eklem bölgelerinde bulunan kemiklerin uç kısımlarını kaplar. Seyrek olarak dağılmış olan kondrositler tarafından yönetilen ekstra sellüler matriksin yapısal işlevi; her türlü basınç ve sıkışma eylemlerine karşı direnç sağlamak, ortaya çıkan yükü dengeli bir şekilde dağıtmak ve sinovyal sıvı ile birlikte eklemlerin sürtünme olmaksızın hareket edebilmelerini sağlamaktır.

Metabolitler, küçük proteinler, gazlar, çözünmüş iyonlar ve sudan meydana gelen doku sıvısı, ayrıca proteoglikan (agregan, dekorin, biglikan) ve kollajen içeren makromoleküller, kıkırdak dokusunun ekstrasellüler matriksini oluşturan temel bileşenlerdir. Eklem işlevlerinin sağlanabilmesi için hücre-matriks ve matriks-matriks ilişkisi önemlidir. Protein yapılarında meydana gelebilecek mutasyonlar, bunların yapı ve fonksiyonlarını bozabilmektedir. Diğer taraftan matriks proteinlerinin sentezinde rol oynayan enzimlerde meydana gelebilecek mutasyonlar da sentezlenen proteinlerin yapısını olumsuz etkileyebilmektedir. Ayrıca kondrositlerde matriks proteinlerinin sentezi ve katabolizması, hücreye dışardan etki eden sitokinler ve hormonların etkisi ile olmaktadır. Bu etkinin kondrosite iletilmesinde rol oynayan reseptör ve hücre içi sinyal iletim proteinlerindeki değişiklikler de kıkırdak fonksiyonlarını etkileyebilmektedir.

Kollajen tip II heterotipik kollajen fibrillerini meydana getiren başlıca kartilaj kollajeni iken, kollajen tip IX ve kollajen tip XI ikinci derecede önemli kartilaj kollajenleridir (51).

Kollajen II, çoğunlukla fibriller içerisine yerleşen kollajen XI ve fibril yüzeyine kovalent olarak bağlanan kollajen IX moleküllerinin bulunduğu, kartilaj heteropolimerik fibrillerin omurgasını oluşturmaktadır (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Kartilaj ekstrasellüler matriksin (ECM) şematik gösterimi. Kollajen tip II, IX ve XI den meydana gelen heterotipik kollajen fibrili ve ilişkili olduğu agregan, kartilaj oligomerik matriks proteini (COMP), hyaluronan, link proteini ve matrilin-3 gibi kollajen ihtiva etmeyen bazı bileşenler (61).

Mutasyona uğrayarak osteoartrit gelişiminde etkili olan protein yapıların başında da, kıkırdak dokusunda en karakteristik yapıya sahip olan kollajen tip II gelmektedir. Çünkü kıkırdak yapısında en çok kollajen tip II bulunur ve yapısındaki bozulma, kıkırdağın fazla su tutmasına, yumuşamasına ve kıkırdak tahribine yol açabilmektedir. Kollajen tip II kıkırdak dokusunun yanı sıra iç kulak ve intervertebral disklerin lifli halkalarında ve göz salgısında bulunmaktadır. Kollajen tip II α -1 (COL2A1) geni 12q13.11-q13.12 kromozom bölgesinde lokalizedir. 54. eksonda bulunan COL2A1 geni, homotrimerik kollajen II'nin üç ayrı α polipeptid zincirini kodlar. Üçlü heliks alanı 1014 amino asit ve çok kısa amino ve karboksi-telopeptid gruplarından meydana gelmektedir (52).

Osteokondrodisplazilerin bir türü COL2A1 geninde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Kollajen II gözün camısı cisminde, iç kulakta, intervertebral disklerde ve kartilajda eksprese edildiğinden dolayı, bu düzensizliklere sahip hastalarda tipik olarak miyop, duyma bozuklukları, bel kemiği deformitelerinin yanı sıra, kısa boy ve eklem problemleri sıklıkla meydana gelebilmektedir. Bu kondrodisplazilerin en şiddetli formları kartilaj matriksinde bulunan toplam kollajen II yokluğuna yol açan glisin yer değiştirme mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca COL2A1 genindeki R519C ve R75C mutasyonlarının erken osteoartrit ve hafif düzeyde spinal epifizyal displazi (SED) oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir (53).

Vitamin D reseptör (VDR) geni hem erkek, hem de kadınlarda diz osteoartriti ile ilişkili bulunmuştur. Bu hastalarda eklem aralığında daralmadan çok, osteofit gelişimi belirgindir. Vitamin D reseptör geni 19. kromozom üzerinde COL2A1 geni ile yakın olarak bulunmaktadır. Bu gen osteoartrit gelişimine, kendisinin değişikliğe uğraması veya yakınında bulunan COL2A1 geniyle etkileşime girmesi sonucu neden olabilir diye düşünülmektedir (54,55).

Eklem kıkırdağının içeriğini oluşturan diğer yapılardan tip VI, IX, X ve XI kollajenlerinde meydana gelebilecek mutasyonların da osteoartrit gelişiminde rol oynaması muhtemeldir. Kollajen tip IX'un fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte, kollajen fibrilleri ile diğer ekstra sellüler matriks bileşenleri arasında makromoleküler bir köprü görevi gördüğü düşünülmektedir. Ayrıca kıkırdak içi kemikleşme, kartilaj ve intervertebral diskler içerisinde ekstra sellüler matriks bütünlüğünün korunmasında önemli role sahiptir. İnsanlarda kollajen tip IX'un farklı α zincirlerini kodlayan genlerdeki mutasyonların multipl epifiziyal displazi (MED) ve intervertebral disk hastalıklarının gelişme riskini artırdığı belirtilmiştir. Eksik COL9A1 zincirleri bulunan ve bol miktarda COL9A1 delesyonu görülen transgenik heterozigot farelerde normal iskeletsel gelişim görülmesinin yanı sıra erken osteoartrit gelişimi gözlenmiştir. Bol miktarda COL9A1 delesyonu görülen transgenik homozigot farelerde ise erken osteoartrit gelişiminin yanı sıra omurga bölgesinde hafif düzeyde kondrodizplazi ve gözlerde oftalmopati gözlemlenmiştir (56).

Kollajen fibril ailesinin bir üyesi olan kollajen tip XI, üç farklı α zincirinden ($\alpha 1(XI)$, $\alpha 2(XI)$, $\alpha 3(XI)$) meydana gelmiştir. $\alpha 1(XI)$ ve $\alpha 2(XI)$ zincirleri COL11A1 ve COL11A2 genleri tarafından kodlanırlarken, $\alpha 3(XI)$ zinciri COL2A1 geni tarafından kodlanmaktadır. $\alpha 1(XI)$ ve $\alpha 2(XI)$ zincirlerinin protein ve gen yapıları birbirleriyle ve kollajen tip V ile oldukça benzer yapıdadır.

COL11A1 geni 150 kb olup, 68 eksondan meydana gelirken; COL11A2 geni 28 kb olup, 66 eksondan oluşmaktadır. Kartilaja ek olarak bütün kollajen tip XI α zincirleri kollajen tip II ile birlikte, intervertebral disk ve iç kulak gibi kıkırdak dokularında eksprese edilirken, gözün camısı cisminde bulunan $\alpha 2(XI)$ zinciri $\alpha 2(V)$ ile yer değiştirir. Kollajen tip XI α zincirlerinin insan ceninine ait böbrek, iskelet kasları, beyin, uzun kemikler, tendon ve akciğer gibi birtakım dokularda eksprese edildiği saptanmıştır (57).

Kollajen tip II, IX ve XI'in organizasyonu kartilaj içerisinde bulunan heterotipik fibrillerde meydana gelmektedir. Kollajen XI kartilajın gelişmesinde ve düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Homozigot farelerde doğal olarak meydana gelen tek nükleotid delesyonları, çerçeve kayması mutasyonu ve prematüre son kodon gibi yıkıcı fonksiyonlara sebep olabilmektedir. COL11A1, COL11A2 ve COL2A1 genlerinde meydana gelen mutasyonlar, insanlarda ortaya çıkan Stickler ve Marshall sendromları gibi iki kalıtsal kondrodizplaziye sebep olabilmektedir (58).

COL11A2 geninde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanan fenotipik spektrum; dominant ve resesif kondrodizplazilerden, sendromik olmayan duyma kaybına kadar uzanabilmektedir. Ayrıca COL11A2 allellerinden birinin Japonlarda belkemiği daralması için başlıca sebeplerden biri olan kamburluk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (59).

Kıkırdakta çok çeşitli protein-protein, protein-glikoprotein ve protein-hücre ilişkisi mevcuttur. Bir gende oluşan tüm mutasyonların osteoartrite neden olması beklenemez. Ancak osteoartrit gelişimine yol açan birçok genetik bozukluk da tanımlanmış durumdadır (60). Osteoartrit gelişiminde rol oynadığı düşünülen katabolik ve anabolik sitokinleri ve kartilaj ekstra sellüler matriks (ECM) komponentlerini kodlayan, kemik mineral yoğunluğu gibi bazı kemik niteliklerini etkileyen ve inflamatör sistem ile ilişkili genler Çizelge 2.1.'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Osteoartrit ile ilişkili olduğu düşünülen genler, bu genlerin kodladıkları proteinler ve kromozomal bölgeleri (61).

Gen	Polipeptid / Protein	Kromozomal Bölge
Kartilaj ECM ile ilişkili Genler		
COL2A1	Kollajen tip 2 α -1 zinciri	12q12-q13.1
COL9A1	Kollajen tip 9 α -1 zinciri	6q12-q13
COL9A2	Kollajen tip 9 α -2 zinciri	1p32
COL9A3	Kollajen tip 9 α -3 zinciri	20q13.3
COL11A1	Kollajen tip 11 α -1 zinciri	1p21
COL11A2	Kollajen tip 11 α -2 zinciri	6p21.3
AGCI	Agregan	15q26
ASPN	Asporin	9q21.3-q22

BGN	Biglikan	Xq22
CILP	Kartilaj orta katman proteini	15q22
COMP	Kartilaj oligomerik matriks proteini	19p13.1
CTRL1	Kartilaj link proteini	5q13-q14.1
SLC26A2 (DTDST)	Diastrofik displazi sülfat transfer edici	5q31-q34
CRTM (MATN1)	Kartilaj matriks protein (Matrilin-1)	1p35
MATN3	Matrilin-3	2p24-p23
PAPSS2	3'-fosfoadenozin 5'-fosfosülfat sentaz-2	10q22-q24
Kemik İle İlişkili Genler		
COL1A1	Kollajen tip 1 α -1 zinciri	17q21.3-q22
VDR	Vitamin D reseptör	12q13.1
BMP2	Kemik morfogenetik proteini-2	20p12
BMP5	Kemik morfogenetik proteini-5	6p12.1
BMPR1A	Kemik morfogenetik protein reseptörü tip 1 α	10q22.3
OGN	Osteoglisin	9q22
İnflamatör Sistem İle İlişkili Genler		
IL1A	Interlökin-1 α	2q13
IL1B	Interlökin-1 β	2q14
IL1RN	IL-1 reseptör antagonist	2q14.2
IL4R	Interlökin 4 reseptör- α	16p12.1
IL6	Interlökin-6	7p21
IL8	Interlökin-8	4q13.3
TNF α	Tümör nekroz faktör- α	6p21.3
Diğer Genler		
ER- α (ESR)	Östrojen reseptör- α	6q22.3-q23.1
FRZB	Salgı proteini-3	2qter
IGF-1	İnsulin benzeri büyüme	12q21.3

	faktörü-1	
IGFBP7	İnsulin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7	4q12
A1AT	α -1-anti-tripsin	14q32.1
A1ACT	α -1-anti-kemotripsin	14q32.1
AACT	α -1 anti-proteinaz, anti-tripsin	14q32.1
ACL P (AEB1)	AE bağlanma proteini-1	7p13
CD36	CD36 antijeni	17q11.2
COX-2 (PTGS-2)	Siklooksijenaz-2	1q25
CTSL	Katepsin L	9q21-q22
HFE	Hemokromatozis geni	6p21.3
MMP-3	Matriks metalloproteinaz-3	11q22.3
OPG	Osteoprogerin	8q24
SOD3	Süperoksit dismutaz-3	4p16
TIMP1	Metalloproteinaz-1 doku inhibitörü	Xp11.3-p11.23
TNA (CLEC3B)	Tetranektin (plasminojen bağlanma proteini)	3p22-p21.3
TNFAIP6	Tümör nekroz faktör- α indükleyici protein-6	2q23.3

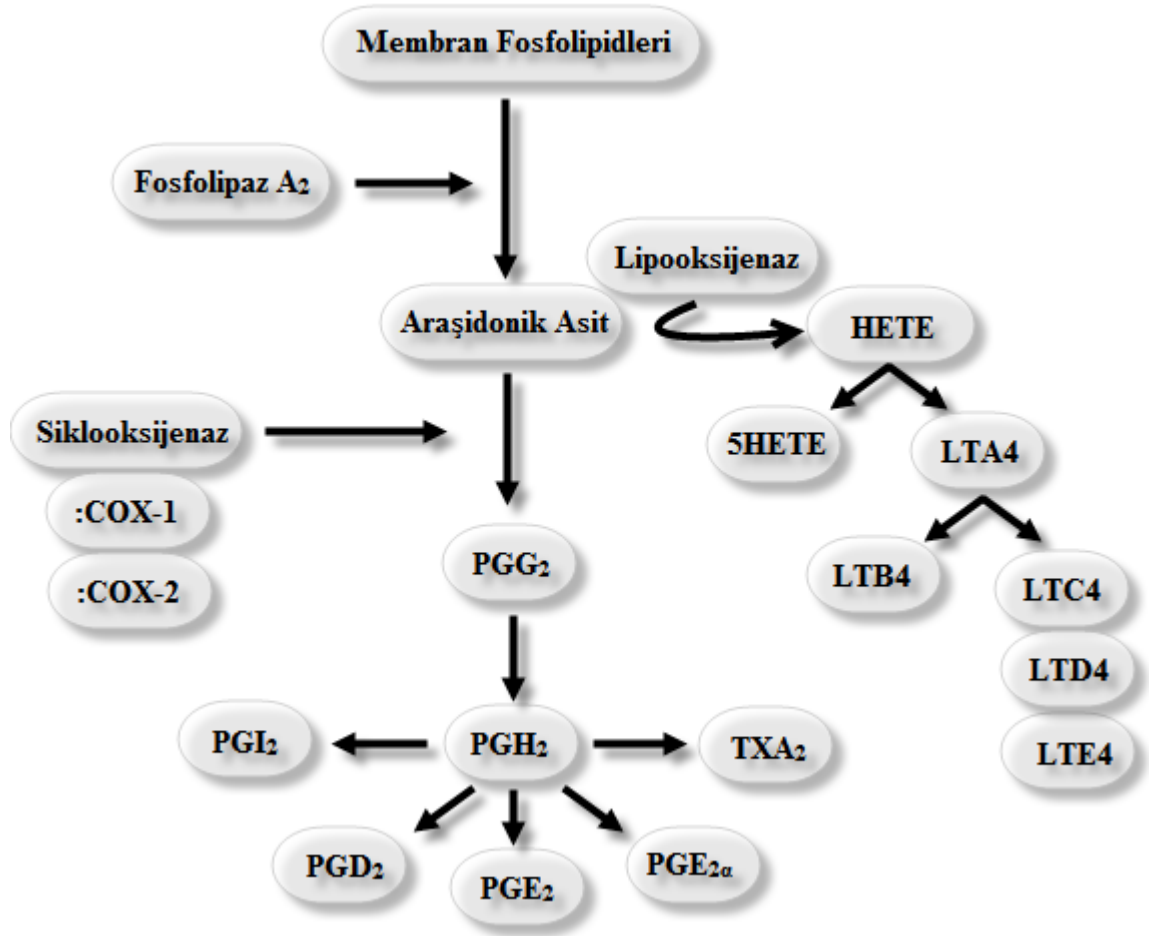
Osteoartrit ile ilişkili olan ailesel kondrokalsinozis hastalığında, genetik geçişten 5. ve 8. kromozomdaki bölgelerin sorumlu olduğu bildirilmiştir. Ayrıca otozomal dominant geçişli birer hastalık olan psödokondroplazi ve MED'in; COMP, COL9A1, COL9A2, COL9A3, MATN3 ve DTDST genleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu genlerde meydana gelebilecek mutasyonların displazi ve erken başlangıçlı osteoartrite neden olabileceği düşünülmektedir (61).

2.2. Siklooksijenazlar (COX)

2.2.1. Siklooksijenaz'ın Yapı ve Fonksiyonu

Prostaglandinlerin prekürsörü olan araşidonik asit, membran fosfolipidlerinde bulunan 20 karbonlu doymamış yağ asit esteridir. Prostaglandin sentezinde ilk basamak fosfolipaz A₂ ile membran fosfolipidlerinin hidrolizi ve araşidonik asit salınımıdır. İkinci reaksiyon ise siklooksijenaz tarafından katalizlenir. COX, prostaglandin sentezinin hız kısıtlayıcı enzimidir. Bu anahtar reaksiyonda, moleküler oksijen (O₂) araşidonik asitin içine katılır ve PGG₂ adlı kararsız ara ürün oluşur. COX'un peroksidaz aktivitesi sayesinde PGG₂ hızlıca PGH₂'ye dönüşür. Sonra, spesifik izomerazlar PGH₂'yi farklı prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürür (Şekil 2.8.) (62).

Araşidonik asit, lipooksijenaz enzimi (LPO) ile lökotrienlere (LT) dönüştürülür. LPO nötrofil, eozinofil, monosit, bazofil ve mast hücrelerinde bulunur. Nötrofillerde LTA₄ LTB₄'e dönüşür, kuvvetli nötrofil kemotaktik faktördür. Eozinofiller ise LTB₄ yerine LTC₄, LTD₄ ve LTE₄ sentezleyerek anaflakside önemli rol oynarlar. Monositler hem LTB₄ hem de LTC₄ sentezler (63).



Şekil 2.8. Eikozanoidlerin sentezi. Farklı uyarılar (bradikinin, trombin, epinefrin) fosfolipaz A₂'yi aktive ederek hücre membranında bulunan fosfolipidlerden araşidonik asit oluşumuna neden olur. Araşidonik asit, siklooksijenaz yolu üzerinden prostaglandinler ve tromboksanlara dönüşürken, lipooksijenaz yolu üzerinden lökotrienlere dönüşür. PG, prostaglandin; LT, lökotrien; HETE, hidroperoksieikozatetroik asit; TXA₂, tromboksan A₂ (64).

PGH₂'den derive olan her maddenin kendine özgü önemli biyolojik aktiviteleri vardır (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Prostaglandinler, etkili oldukları organlar ve etkileri (62).

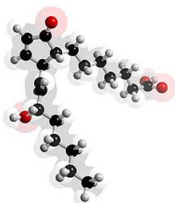
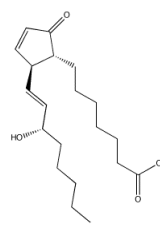

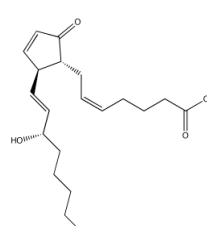
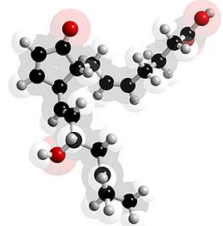
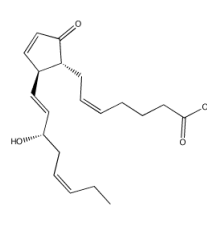
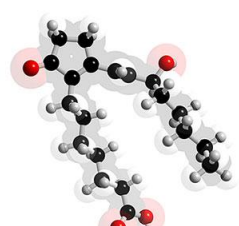
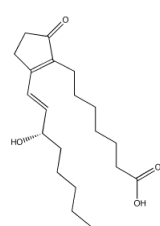
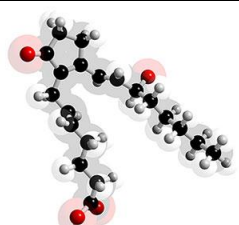
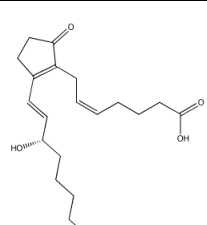
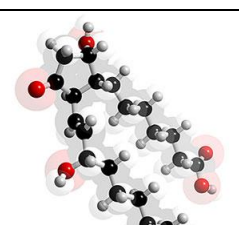
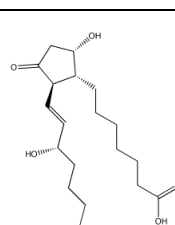
Prostaglandin	COX-1	COX-2	Etkilediği organ	Etkileri
PGE ₁	++ ++ ++ -	+ + ++ ++	MSS / Periferel sinirler GIS Böbrek Periferel dokular	Ağrıya karşı aşırı hassasiyet Mortilite, mukozanın korunması İlik kan akışı, Na ⁺ – K ⁺ değişimi İltihap cevabı
PGE ₂	++ - - ++	+ ++ + ++	MSS / Periferel sinirler Periferel dokular GIS Uterus	Ağrıya karşı aşırı hassasiyet İltihap cevabı Mukozanın korunması, H ⁺ salınımı Çalışma başlangıcı
PGI ₂	- ++ ++ ++	++ ? + ++	Damar duvarı Koagulasyon GIS Böbrek	Düz kas rahatlaması Fibrin çözülmesi, trombosit agregasyonu Mukozanın korunması, H ⁺ salınımı Kortikal ve glomerular kan akışı
TXA ₂	++ ++ ++	- + -	Trombosit Damar duvarı Böbrek	Ön agregasyon Büzülme, daralma Glomeruler filtrasyonun düzenlenmesi
PGE _{2α}	- -	++ ++	Uterus Böbrek	Doğum sırasında kasılma Na ⁺ /su atılımı

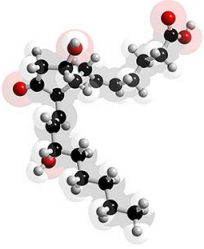
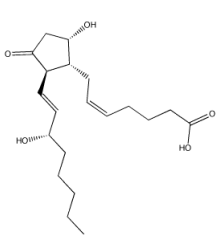
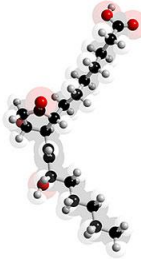
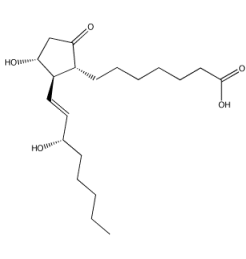
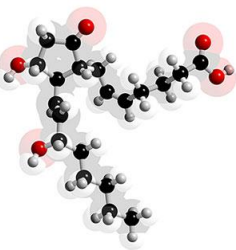
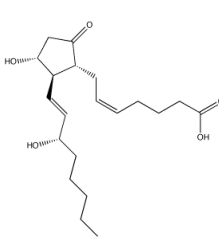
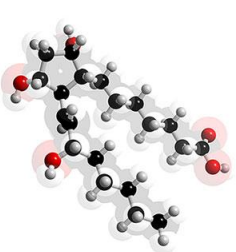
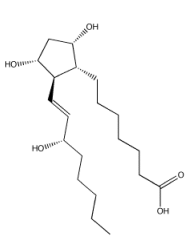
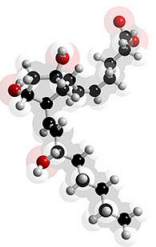
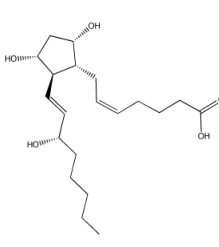
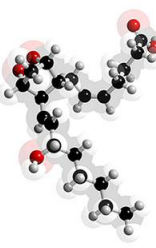
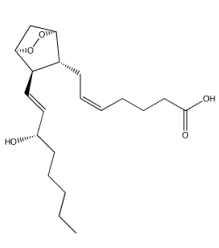
++: metabolizmada bulunan baskın COX enzimi; +: non-inflamatuvar koşullarda düşük konsantrasyonlarda bulunan COX enzimi; GIS: gastro intestinal sistem; MSS: merkezi sinir sistemi.

İmmün kompleksler, UV radyasyon, mekanik hasar ve histamin gibi farklı uyaranlarla başlatılabilen inflamatuvar olaylarda, araşidonik asitten köken alan prostaglandinler, lökotrienler ve tromboksan A₂'nin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (64).

İnsanda bulunan prostaglandin çeşitleri ile 3 boyutlu ve kimyasal yapıları Çizelge 2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. İnsanda bulunan prostaglandin çeşitleri ile 3 boyutlu ve kimyasal yapıları.

Prostaglandin Çeşidi	3 Boyutlu Molekül Yapısı	Kimyasal Yapısı
Prostaglandin-A ₁ (C ₂₀ H ₃₂ O ₄)		
Prostaglandin-A ₂ (C ₂₀ H ₃₀ O ₄)		
Prostaglandin-A ₃ (C ₂₀ H ₂₈ O ₄)		
Prostaglandin-B ₁ (C ₂₀ H ₃₂ O ₄)		
Prostaglandin-B ₂ (C ₂₀ H ₃₀ O ₄)		
Prostaglandin-D ₁ (C ₂₀ H ₃₂ O ₄)		

<p>Prostaglandin-D₂ (C₂₀H₃₄O₅)</p>		
<p>Prostaglandin-E₁ (C₂₀H₃₄O₅)</p>		
<p>Prostaglandin-E₂ (C₂₀H₃₂O₅)</p>		
<p>Prostaglandin-F_{1a} (C₂₀H₃₆O₅)</p>		
<p>Prostaglandin-F_{2a} (C₂₀H₃₄O₅)</p>		
<p>Prostaglandin-H₂ (C₂₀H₃₂O₅)</p>		

2.2.2. Siklooksijenaz'ın Tarihçesi

Etki mekanizmaları konusunda yaptığı çalışmalar ile ilk kez siklooksijenaz enzimini tanımlayan İngiliz farmakolog John Vane, 1971'de aspirinin kobay domuz akciğerinde COX enzimini invitro ortamda irreversibl olarak inhibe ettiğini bildirdi. Burada aspirinin COX'u irreversibl olarak asetillemek suretiyle prostaglandin sentezini inhibe ettiği açıklandı. Daha sonra yetmişli yılların başında Smith ve Willis aspirinin trombosit agregasyonunu azaltıcı etkisini keşfetti (65,66). Bu bulgular nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların antiinflamatuvar ve istenmeyen bazı yan etkilerinin prostaglandin sentezinin baskılanması yoluyla oluştuğu hipotezini kuvvetlendirdi. Ancak bu klasik teori NSAİİ'ların tüm dozlarındaki etkilerini açıklamıyordu (67). Örneğin izole hücrelerde inflamasyonun tedavisi için gereken terapötik ilaç konsantrasyonu, prostaglandin sentezini inhibe edecek ilaç konsantrasyonundan daha fazladır. Buna ek olarak çoğu NSAİİ'nin antiinflamatuvar dozu, analjezik dozundan daha fazladır. Bu nedenlerle NSAİİ'ların etkilerinde başka mekanizmaların da rol oynayabileceği düşünüldü. 1976'da COX enzimi ilk kez elde edilmiş, böylece NSAİİ'nin etki mekanizmaları, yan etkileri ve güvenlik profili üzerine olan çalışmalar hızlanmıştır. Bu konuda son gelişme 1990'ların başında COX'un tek bir molekül olmadığı ve birden fazla izomerlerinin farklı işlevlerinin olduğunun gösterilmesi olmuş ve böylece klinik çalışmalarda yeni bir boyut kazanmıştır. 1992'de ikinci COX izoformu moleküler olarak klonlandı ve moleküler özellikleri tanımlandı. COX-2 adı verilen bu izoformun ilkinde göre inflamatuvar cevapta daha hızlı indüklenbildiği ve farklı işlevlere sahip olduğu anlaşıldı (68-71).

2.2.3. COX-1 ve COX-2'nin Temel Özellikleri

COX'un COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki farklı izoformu bulunmaktadır (72,73). Bu iki izoform birçok açıdan birbirinden farklıdır. Hemen her dokuda COX-1 sürekli olarak eksprese edilerek gastrik mukozanın bütünlüğünün sürdürülmesi, böbrek kan akışının düzenlenmesi, trombosit fonksiyonları gibi normal fizyolojik fonksiyonları kontrol eden prostaglandinlerin üretiminde aracılık eder. Stimuluslarla COX-1 ekspresyonu 2-4 kat artabilir. Glikokortikoidler COX-1 düzeyini çok az etkiler. COX-2 ise bazal durumlarda çoğu dokuda saptanamayacak kadar az miktardadır. COX-2

patolojik ve inflamatuvar doku işlemlerinde rol alan, üretimi hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir enzimdir (72,74-76). COX-2 bunun dışında bazı noninflamatuvar dokularda da eksprese edilebilir (Çizelge 2.4.) (77).

Çizelge 2.4. Noninflamatuvar doku fonksiyonlarında COX-2'nin rolü (77).

Doku	COX-2 Ekspresyonu	Olası Fonksiyonlar
Böbrek	Makula densa (juktalomerular aygıt), Henlenin kortikal kalın çıkan lopu	İntravasküler yoğunluğun düzenlenmesi
Beyin	Endotelial hücreler Kortikal nöronlar	Ateş cevabı Nöronlar arası bağlantı MSS gelişimi Öğrenme ve hafıza
Kemik	Osteoblastlar	Osteoblastik farklılaşma, Kemik oluşumunun düzenlenmesi
Uterus	Embriyo implantasyonu	
Gastrointestinal trakt	İntestinal epitelyum Gastrik ülserler Ülser iyileşmesi	Mukozal sıvı salgılanması, Bakterilerden temizlenme

MSS: Merkezi sinir sistemi

COX-1 ve COX-2 enzimleri birbirine oldukça benzeyen uzun ince bir kanal yapısına sahiptir. COX-1 ve COX-2 proteinlerinin aktif bölgeleri birbirine çok benzer olmasına karşın COX-2'nin farklı yapı özelliği bunun selektif olarak inhibisyonuna sebep olmaktadır. COX-1'in aminoasit dizisinde 120. sıradaki izolösinin yerini COX-2 de daha küçük bir aminoasit olan valin almakta, bu değişiklik COX-2'deki merkezi kanalın etrafında kullanılmayan geniş hacimli "yan cep" olarak adlandırılan bir aktif alan yaratmaktadır. Bu ek alana bağlanmak üzere tasarlanan bileşikler potent ve selektif COX-2 inhibitörleridir (Çizelge 2.5.) (78).

Çizelge 2.5. Selektif ve selektif olmayan COX inhibitörleri (79,80).

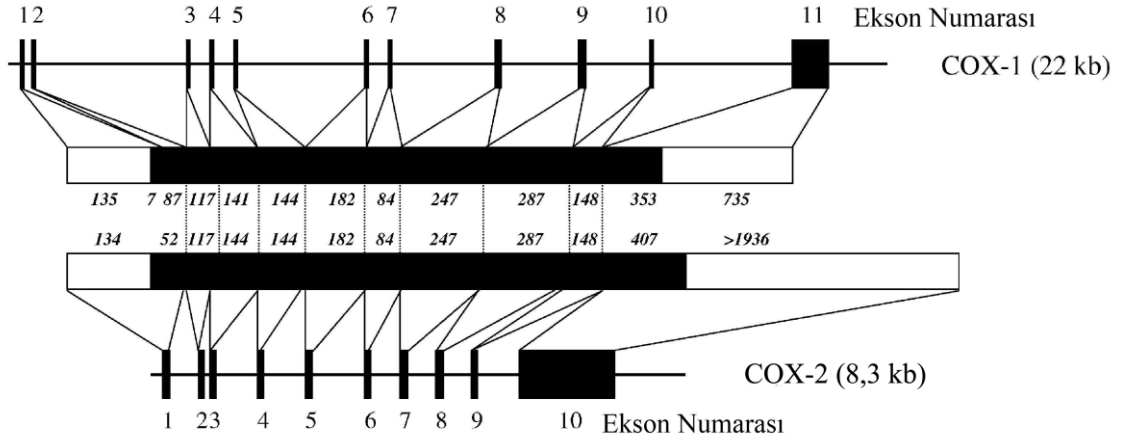
Selektif COX-1 İnhibitörleri	Selektif COX-2 inhibitörleri	Selektif Olmayan COX İnhibitörleri
Aspirin	Meloksikam	Ibuprofen
S-Indobufen	Nimesulid	Naproksen
Valeryl Salisilat	Diklofenak	S-Ketoprofen
Sülfinpirazon	Etodolak	Flurbiprofen
Meklofenamat	Etorikoksib	Sodyum Salisilat
Triflusal	CGP 28238	6-MNA ^a
Mefenamik asit	DuP 697	Indometasin
Niflumik asit	T-614	Piroksikam
Tenoksikam	SC-58125 ^b	Asetaminofen
Tolfenamik asit	NS-398 ^b	Sulindak
Benoksoprofen	L-745,337 ^b	Diflunisal
Oksaprozin	Rofekoksib	Ketorolak
	Valdekoksib	Olsalazin

^aNabumeton'un aktif metaboliti ^bSelekoksisib prototipi

2.2.4. COX-1 ve COX-2'nin Gen Yapısı

İlk kez 1989 yılında cDNA'nın klonlanması ile kuzu COX-1'inin yapısı tanımlanmıştır (81,82). Daha sonra insan genomik DNA'sının klonlanması ve dizi analizi ile insan COX-1'inin tüm amino asit dizisi ortaya çıkartıldı (83). COX-1 geni 22 kb uzunluğunda, 11 eksonlu ve 2,8 kb mRNA'dan oluşur; 576 amino aside sahip olup, molekül kütlesi 70 kDa'dur. COX-2 geni 8,3 kb uzunluğunda, 10 eksonlu ve 4,6, 4,0 ve 2,8 kb uzunluğunda mRNA'ya sahiptir (84-87). COX-2 cDNA'sı COX-1 polipeptidine % 61 oranında benzerlik gösteren ve 604 amino asit dizisi içeren bir polipeptid kodlar. (Şekil 2.9.). COX-1 ve COX-2'nin gen yapıları ekson-intron bölgeleri teşkil eder. COX-1'de bulunan ilk intron COX-2'de yoktur. Ayrıca COX-2'de bulunan intronlar COX-1'dekilerden daha kısadır. İnsan COX-1 promotör bölgesinde birçok transkripsiyonel düzenleyici element bulunduğu tahmin edilmektedir. Burada iki stimülatör protein

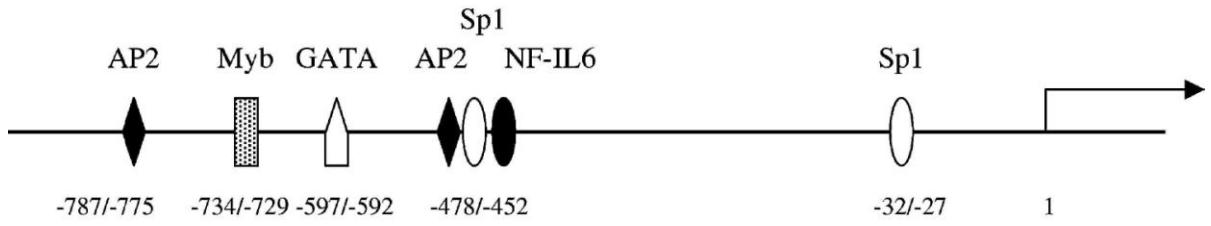
(SP1) motifi, iki AP-2 (aktif edici protein-2) bölgesi, bir NF-IL6 motifi ve bir GATA kutusu bulunmaktadır. Ancak COX-1 geninin 5'-flanking bölgesinde TATA kutusu bulunmamaktadır.



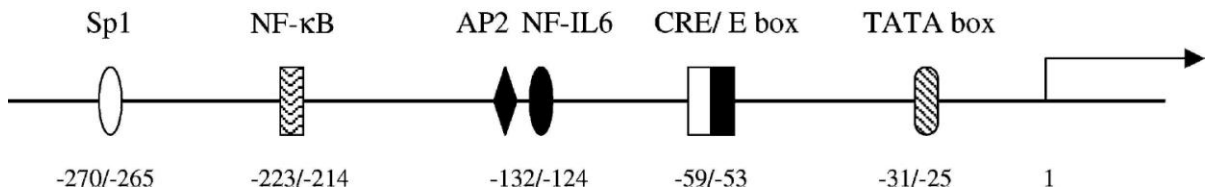
Şekil 2.9. COX-1 ve COX-2 gen yapıları. COX-1 ve COX-2 genlerinin ekson-intron yapıları. İtalik yazılar eksonu oluşturan nükleotidlerin sayısını göstermektedir (88).

COX-2'nin 5'-flanking bölgesinin dizi analizi bir TATA kutusu, bir NF-IL6 motifi, iki AP-2 bölgesi, üç SP1 bölgesi, iki NF- κ B bölgesi, bir CRE motifi ve bir E kutusu içeren birçok potansiyel transkripsiyon düzenleyici elementi ortaya çıkarmıştır (Şekil 2.10.).

İnsan COX-1 Promotörü



İnsan COX-2 Promotörü



Şekil 2.10. COX-1 ve COX-2 promotörlerinde bulunan düzenleyici elemanlar. 5'-flanking bölgesinde bulunan muhtemel cis-acting elemanları (88).

COX-2 geni fare, sıçan, inek ve atlarda karakterize edilmiş ve benzer yapılarda olduğu anlaşılmıştır (89). COX-1 ve COX-2 enzimlerine ait gen yapısı Çizelge 2.6.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin gen yapısı (62,88).

Özellik	COX-1	COX-2
Lokus	9q32-q33.3	1q25.2-q25.3
Ekson Numarası	11	10
Nükleotid miktarı	1797 bp	1812 bp
Amino asit sayısı	576 aa	604 aa
Moleküler ağırlık	69,054 kDa	69,093 kDa
5'-Flanking bölgesi	GATA kutusu, NF-IL6, GC zengin, Spl, AP2	NF-KB, NF-IL6, CRE, E kutusu, TATA kutusu
3'UTR	0,7 kb	2 kb AUUUA zengin element
Ekspresyon	Sürekli	İndüklenebilir

Protein büyüklüğü	SDS-PAGE’de tek band, yaklaşık 72 kDa	SDS-PAGE’de çift band, 72 kDa ve 74kDa
Gen büyüklüğü	22 kb	8,3 kb
Kromozom numarası	9	1
mRNA büyüklüğü	2,8 kb	4,5 kb; çok sayıda AU’dan zengin bölgeler içerir

SDS-PAGE: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi; EGF: Epidermal büyüme faktörü

2.2.4.1. COX-1 Geninin Ekspresyonu

COX-1 mRNA ve proteini hayvan türlerinde birçok doku ve hücrede sürekli olarak eksprese edilir. COX-1, hepsinde olmasa da birçok doku ve hücrede eksprese edilir. Bunun yanında bazı sistemlerde indüklenebilmektedir (90). Bazı hücrelerde farklılaşma sırasında, kesme gerilimi, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve trombin cevabında COX-1 ekspresyonu artar (Çizelge 2.7.).

Çizelge 2.7. COX-1 ekspresyonu indükleyicileri (91).

İndükleyici	Hücre Tipi
TPA (Forbol esteri)	Megakaryoblastlar, trakea epitel hücreleri, EGV-6
TGF β	Akciğer fibroblastları
VEGF	Vasküler endotelyal hücreler
Kesme gerilimi	Vasküler endotelyal hücreler
Mekanik gerilim	Osteositler
Estradiol-17 β	Vasküler endotelyal hücreler
Bradikinin	Safra kesesi
c-Kit ligand	Genç fare mast hücreleri
Retinoik asit	Nöroblastoma
IL-1 β	Fibroblast
IL-1 α	Sinovyal hücreler
Tütün karsinojeni	U937
Trombin	Vasküler endotelyal hücreler

2.2.4.2. COX-2 Geninin Ekspresyonu

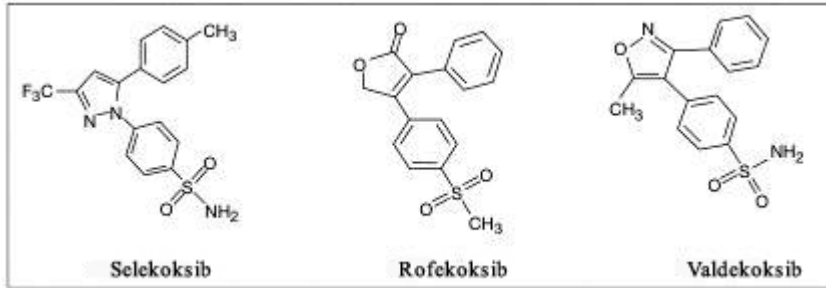
COX-2 gen ekspresyonunun çeşitli doku ve hücrelerdeki varlığı belirtilmektedir (92,93). Ayrıca COX-2 ekspresyonunu stimüle eden çeşitli faktörlerin olduğu bilinmektedir. Ekspresyondan sorumlu bazı proinflamatuvar faktörler: IL-1, TNF- α , interferon gama (INF- γ), lipopolisakkarit (LPS), ve doku plazminojen aktivatör (TPA); hormonlar: folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinleştirici hormon (LH) ve östrojen; büyüme faktörleri: endotelial büyüme faktörü (EGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF); onkogenler: v-SRC ve v-Ras'dır (Çizelge 2.8.). COX-2 gen ekspresyonunun düzenlenmesi, COX-2 promotöründe bulunan NF- κ B bölgesi, NF-IL-6 motifi, CRE ve E kutusu gibi bazı sinyal yolları ile ilişkilidir. Üç mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) kaskadı: ERK1/2, JNK/SAPK ve p38, COX-2 gen indüksiyonuna birlikte veya bağımsız olarak katkıda bulunur (93).

Çizelge 2.8. COX-2 ekspresyonu indükleyicileri (91).

Sitokin	Büyüme faktörü veya tümör promotörü	Diğerleri
IL-1- α , β	aFGF (asidik fibroblast büyüme faktörü)	Anti-fosfolipid antikor
IL-6	bFGF (temel fibroblast büyüme faktörü)	25-Hidroksi kolesterol
IL-8	IGF (insülin büyüme faktörü)	Oksijen yetersizliği
IL-11	EGF	Mekanik gerilim
IFN- γ	PDGF	Nitrik oksit
	TGF- β	Forskolin
	VEGF	FSH
	TNF- α , β	LPS
	TPA	LH
	Serum faktörü	v-Ras
	İnsülin	v-Src
		NMDA (N-metil-D-aspartat)

Birçok büyüme faktörü, sitokinler ve mekanik gerilim COX-2 genindeki transkripsiyon faktörlerini aktive ederek ekspresyonun düzenlenmesini sağlarlar. COX-2 gen ekspresyonu; glikokortikoidler, IL-4 ve IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinler ile engellenebilir (94).

COX-2 gen ekspresyonu romatizma, kardiyovasküler trombotik olgular, kanser ve Alzheimer gibi birçok hastalık ile ilişkilidir. COX-2 tedavi veya önlem için önemli bir terapötik hedefdir. Selektif COX-2 inhibitörleri halen osteoartrit ve romatoid artrit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak selekoksib, rofekoksib ve valdekoksib gibi bazı inhibitörler birçok COX-2 bağımlı fizyolojik fonksiyonları da engellemektedir (Şekil 2.11.). COX-2 inhibitörlerinin dezavantajlarını engellemek için muhtemel yaklaşım tarzları, COX-2 ekspresyonu için spesifik transkripsiyonel yolu önleyen tedavilerdir (95).



Şekil 2.11. Bazı COX-2 inhibitörlerinin kimyasal yapısı. Selekoksib, rofekoksib ve valdekoksib heterosiklik bir yapıya sahiptir. Selektif COX-2 inhibitörlerinin büyük zincir kısmı COX-1'in hidrofobik kanalına bağlanamazken, COX-2'nin hidrofilik cep bölgesine bağlanabilmektedir (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Örneklerin Toplanması

Yapılan çalışmada hasta grubunu Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Polikliniği'ne başvuran, 18'i erkek ve 82'si kadın 100 osteoartrit hastası oluşturmaktadır.

Kontrol grubu ise Mersin Toros Devlet Hastanesi kan alma bölümüne başvuran 40'ı erkek ve 60'ı kadın 100 adet sağlıklı bireyden meydana gelmektedir.

Osteoartritli hastalardan ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden, içerisinde etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) bulunan tüplere 5'er mL kan alındı. Kan örnekleri deoksiribo nükleik asit (DNA) izolasyonu yapılmaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Cihazlar

1. Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
2. Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
3. Distile Su Cihazı (Millipore)
4. Elektroforez Güç Kaynağı (Wealtec, ELITE 300)
5. Elektroforez Tankı (Biolab, Mazfill, HU13)
6. Etüv (Binder)
7. Hassas Terazisi (Mettler Toledo, AL204)
8. Jel Görüntüleme Sistemi (Bio-Imaging Systems)
9. Mikrodalga Fırın (Arçelik)
10. Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
11. pH Metre (Mettler Toledo)
12. Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma, 2-16K)
13. Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
14. Thermal Cycler (Techne, TC-312, Cambridge, UK)
15. Vorteks (Heidolph)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

1. Agaroz-Plus (Prona-071473PR)
2. Borik Asit (Riedel de Haen-11606)
3. DNase, RNase Free Su (Sigma-W3500)
4. Etanol (Merck 1.00986)
5. Ethidium Bromide (Amresco-X 328)
6. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Merck-1.08421)
7. Hidroklorik Asit (Merck-1.00314)
8. İzopropanol (2-propanol)(Sigma-I9516)
9. Magnezyum Klorür (Merck-1.05833)
10. Orange G (Sigma-O 3756)
11. Proteinaz K (Sigma- P2308)
12. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Lauryl Sulfate) (Sigma-L5750)
13. Sodyum Hidroksit (Merck-1.06462)
14. Sodyum Klorür (Merck-1.06404)
15. Sükröz (Merck-1.07651)
16. Taq DNA polimeraz (Fermentas-EP0402)
17. Tris-Baz (Amresco-826)
18. Tris-Hidroklorid (Amresco-0234)
19. Triton X100 (Merck-1.08603.1000)
20. 10X PCR Buffer (NH₄) (Fermentas-EP0402)
21. 25 mM MgCl₂ (Merck-1.05833)
22. 2mM dNTP Mix (Fermentas-R0192)
23. 100 bp marker (100bp DNA Ladder, MBI Fermentas Vilnius, Lithuania)
24. Primerler

Forward 5'-ATT CTG GCC ATC GCC GCT TC-3'

Reverse 5'-CTC CTT GTT TCT TGG AAA GAG ACG-3'

25. Bsh1236I (FnuDII) restriksiyon enzim seti (Fermentas - ER0922)

3.2.3. Kullanılan Çözeltiler

3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar

1. Doymuş Sodyum Klorür

- NaCl.....3,5 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2. Etil Alkol (100 mL için)

(% 70'lik etil alkol)

- Etil alkol.....70 mL

Mevcut stok etil alkolden (% 96'lık) 70 mL alındı ve üzerine 24 mL saf su eklendi.

3. Fizyolojik Tampon

- 0,075 M NaCl (0,438 g)
- 0,025 M EDTA (0,93 g)

Saf su ile 100 ml'ye tamamlandı ve +4 °C'de muhafaza edildi.

4. İzopropanol

Mevcut stok izopropanolden 50 mL alındı ve -20 °C'de muhafaza edildi.

5. Lysis Buffer

- 0,32 M Sukroz (10,9 g)
- 10 mM Tris/HCl pH 7,5 (0,157 g)
- 5 mM MgCl₂ (0,1 g)
- % 1 Triton X100 (1 mL)

Kimyasal maddeler bir miktar saf suda çözümlenip pH 7,5'e ayarlandı ve saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

6. Proteinaz-K (100 mg/mL)

Liyofilize 100 mg Proteinaz-K içerisine 1 mL saf su konularak çözüldü ve 50 µL'lik porsiyonlar halinde -20 °C'de saklandı.

7. % 10'lük SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)

- SDS.....1 g

Saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak oda ısısında saklandı.

8. Tampon A

- 10 mM Tris/HCl pH 8 (0,157 g)
- 2 mM EDTA (0,074 g)

Saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak oda ısısında saklandı.

3.2.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar

1. 10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Stok Solüsyonu pH 8,8

- Tris Baz.....108 g
- Borik Asit.....55 g
- EDTA.....8,3 g

Saf su ile 1 litreye tamamlanarak oda ısısında saklandı.

2. Elektroforez Yürütme Tamponu (1XTBE)

10X TBE stok solüsyonu saf suyla seyreltilerek 1XTBE tamponu hazırlandı.
Hazırlanan 1XTBE tamponu elektroforez tankına konuldu.

3. % 2 Agaroz Jel Solüsyonu

- 1XTBE Buffer.....120 mL
- Agaroz2,4 g
- Ethidium Bromide.....0,5 µg/mL

4. Orange G Solüsyonu

- 1 mM Na₂EDTA2,232 g
- Orange G200 mg
- Gliserol.....60 mL
- Distile Su40 mL

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3.1. DNA İzolasyonu

Bu çalışmada tam kan örneklerinden DNA izolasyonu Poncz yöntemine göre yapıldı (96).

Yöntem

1. EDTA'lı tüpe alınan kandan 500 µL alınarak 1,5 µL'lik steril eppendorf tüpüne aktarıldı.
2. Üzerine 1 mL lysis buffer eklendi ve karıştırıldı.
3. Tüpler 5 dakika bekletildi ve 13.000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildi.
4. Süpernatant döküldü ve aynı adım bir kez daha tekrarlandı.
5. Tüplere 1 mL fizyolojik tampon eklenerek karıştırıldı.
6. Bu karışım 13.000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildi.
7. Süpernatant kısmı atıldı ve dipteki pellet üzerine 300 µL Tampon A eklendi.
8. Bu karışım üzerine 10 µL SDS ve 25µL Proteinaz-K konularak karıştırıldı.
9. Tüpler 65°C'de 45 dakika bekletildi.
10. Tüpler oda ısısına getirildi.
11. Tüplere 50 µL doymuş sodyum klorür eklenerek 15-20 saniye vorteks yapıldı.
12. Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
13. Süpernatant yeni bir steril eppendorf tüpüne alındı.
14. Süpernatant üzerine eşit hacimde izopropil alkol eklendi.
15. Tüpler yavaşça alt üst edilerek DNA'nın ipliksi bir görünüm alışı izlendi.
16. 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
17. Süpernatant atılarak pellet halindeki DNA üzerine 1 mL % 70'lik soğuk etil alkol eklenerek karıştırıldı.
18. Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
19. Süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek alkol kurutuldu.
20. Tüplere 50 µL saf su eklenerek DNA 37 °C'de bir gece çözülmeye bırakıldı.

21. İzole edilen DNA çalışılncaya kadar +4 °C’de saklandı.

3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İzole edilen DNA kalıp kullanılarak COX-2 geninin 765. bölgesindeki polimorfizm, polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi. Çalışmada kullanılan primerler, Pereira ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalardan seçildi (97). COX-2 genindeki polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde forward ve reverse primerler kullanıldı.

COX-2 765 G>C bölgesi için kullanılan PCR bileşenleri;

Saf su.....	26,5 µL
10X PCR Buffer.....	5 µL
MgCl ₂ (25 mM).....	4 µL
dNTP Mix (2 mM).....	10 µL
Primer 1 (Forward) (50pmol/µL).....	1 µL
Primer 2 (Reverse) (50pmol/µL).....	1 µL
Taq DNA Polimeraz.....	0,5 µL
DNA örneği.....	2 µL

PCR reaksiyonu için koşullar:

Ön denatürasyon.....	95 °C 10 dakika (1 Döngü)	
Denatürasyon.....	94 °C 1 dakika	} (35 Döngü)
Primer bağlanması.....	57 °C 1 dakika	
Sentez.....	72 °C 1 dakika	
Son Sentez.....	72 °C 10 dakika (1 Döngü)	

PCR ürünleri, elektroforez ve RFLP işlemlerinde kullanılmak üzere +4 °C’de saklandı.

3.3.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi

Bir örnek için enzim kesimi:

Distile su..... 6,8 µL

Bsh1236I (10 U/µL)..... 0,2 µL

10X Tampon R..... 3 µL

PCR ürünü..... 10 µL

Toplam hacim..... 20 µL

Yöntem uygulanırken öncelikle distile su, Bsh1236I ve Tampon R kullanılarak örnek sayısı kadar miks hazırlandı. Bu karışıma vorteks ve santrifüj işlemleri uygulanarak homojen bir biçimde karışması sağlandı. Hazırlanan karışım 10 µL'lik porsiyonlara ayrıldı ve üzerine PCR ürünlerinden 10 µL eklendi. Vorteks ile karıştırılarak santrifüj edildi. Tüm örnekler 37 °C'de su banyosunda 3 saat süreyle inkübe edildi. Süre sonunda kesim ürünleri 9 µL ethidium bromide içeren % 3'lük agaroz jelde 50 dakika süre ile yürütüldü ve jel görüntüleme sisteminde görüntülenerek değerlendirildi.

3.3.4. Genotip Tayini

COX-2 genine ait PCR ürünü 157 bp uzunluğunda olup, restriksiyon enzimi ile kesim sonucunda 134 ve 23 bp uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. Wild type (GG) genotipe sahip kişiler için 134 ve 23 bp'lik iki bant, heterozigot (GC) genotipe sahip kişiler için 157, 134 ve 23 bp'lik üç bant ve homozigot (CC) genotipe sahip kişiler için ise 157 bp'lik tek bir bant gözlenmektedir.

3.3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışma parametreleri SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 11.5) paket programında istatistiksel olarak analiz edildi. Tüm gruplar için genotip dağılımları ve allel frekansları hesaplandı. Bu frekansların kontrol ve hasta gruplarında görülme sıklıkları arasındaki ilişkiler ki-kare testi ile araştırılarak Odds oranları (OR) bulundu. Elde edilen sonuçlarda $p < 0,05$ ise fark veya ilişki istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın hasta grubunu osteoartrit tanısı konmuş 100 kişi oluştururken, kontrol grubunu ise 100 sağlıklı kişi meydana getirmektedir. Hasta grubu kendi içerisinde gonartroz, lomber spondiloz ve servikal spondiloz olmak üzere üç farklı gruba ayrılmaktadır.

Kontrol grubunun genel yaş ortalaması $30,92 \pm 7,54$, yaş sınırı 16-48, tüm osteoartritli olguların yaş ortalaması $60,38 \pm 8,43$, yaş sınırı ise 41-81 olarak bulundu (Çizelge 4.1.). 59 gonartrozlu hastanın yaş ortalaması $60,11 \pm 7,86$, yaş sınırı 48-78; 27 lomber spondilozlu hastanın yaş ortalaması $62,37 \pm 10,07$, yaş sınırı 41-81; 14 servikal spondilozlu hastanın ise yaş ortalaması $57,64 \pm 6,82$, yaş sınırı 43-69 olarak belirlendi (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyete göre yaş dağılımları.

Grup	Cinsiyet	n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Hasta	Kadın	82	41	81	60,24	8,43
	Erkek	18	49	77	61,00	8,68
	Genel	100	41	81	60,38	8,43
Kontrol	Kadın	60	16	48	30,32	7,16
	Erkek	40	16	47	31,83	8,09
	Genel	100	16	48	30,92	7,54

n= Birey sayısı

Çizelge 4.2. Hasta grubunda osteoartrit çeşidine göre yaş dağılımları.

Hastalık Grubu	n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Gonartroz	59	48	78	60,11	7,86
Lomber spondiloz	27	41	81	62,37	10,07
Servikal spondiloz	14	43	69	57,64	6,82

n= Birey sayısı

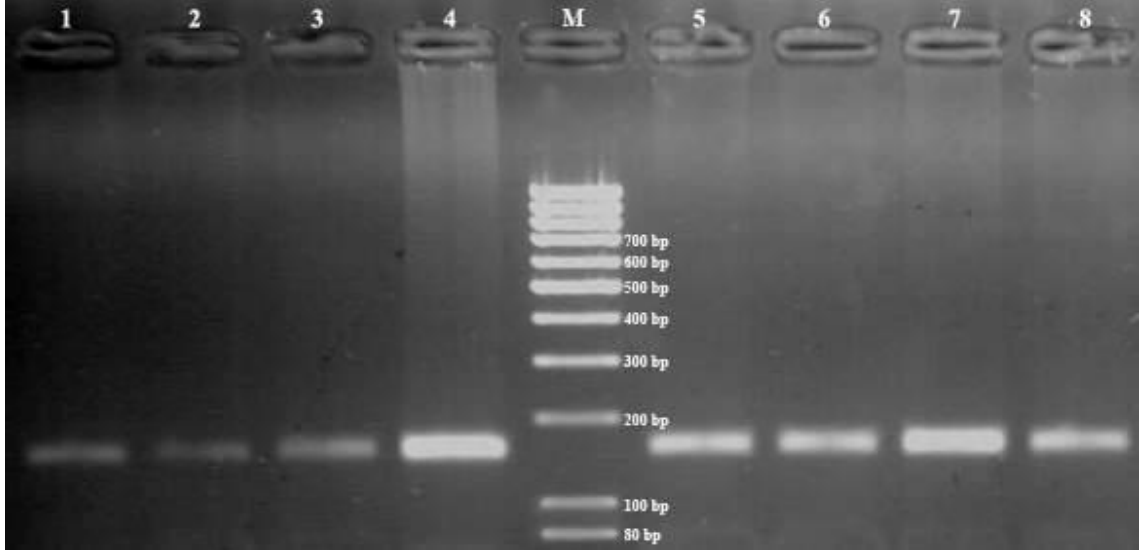
Gonartroz tanısı konmuş hastaların 48'i kadın, 11'i erkek; lomber spondiloz tanısı konmuş hastaların 22'si kadın, 5'i erkek; servikal spondiloz tanısı konmuş hastaların ise 12'si kadın 2'si erkekti (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Hasta ve kontrol grubunda kadın erkek sayısı ve yaş ortalamaları.

	Kontrol (n=100) n (%)	Osteoartrit (n=100) n (%)	Gonartroz (n=59) n (%)	Lomber Spondiloz (n=27) n (%)	Servikal Spondiloz (n=14) n (%)	p değerleri
Cinsiyet						
Erkek	60 (% 60)	18 (% 18)	11 (% 18,6)	5 (% 18,5)	2 (% 14,3)	0,001 ^a 0,005 ^b 0,038 ^c 0,062 ^d
Kadın	40 (% 40)	82 (% 82)	48 (% 81,4)	22 (% 81,5)	12 (% 85,7)	0,989 ^e 0,702 ^f 0,733 ^g
Yaş	30,92±7,54	60,38±8,43	60,11±7,86	62,37±10,07	57,64±6,82	<0,001 ^a <0,001 ^b <0,001 ^c <0,001 ^d 0,618 ^e 0,723 ^f 0,276 ^g

^aKontrol-Osteoartrit, ^bKontrol-Gonartroz, ^cKontrol-Lomber Spondiloz, ^dKontrol-Servikal Spondiloz, ^eGonartroz-Lomber Spondiloz, ^fGonartroz-Servikal Spondiloz, ^gLomber Spondiloz-Servikal Spondiloz arası ilişki

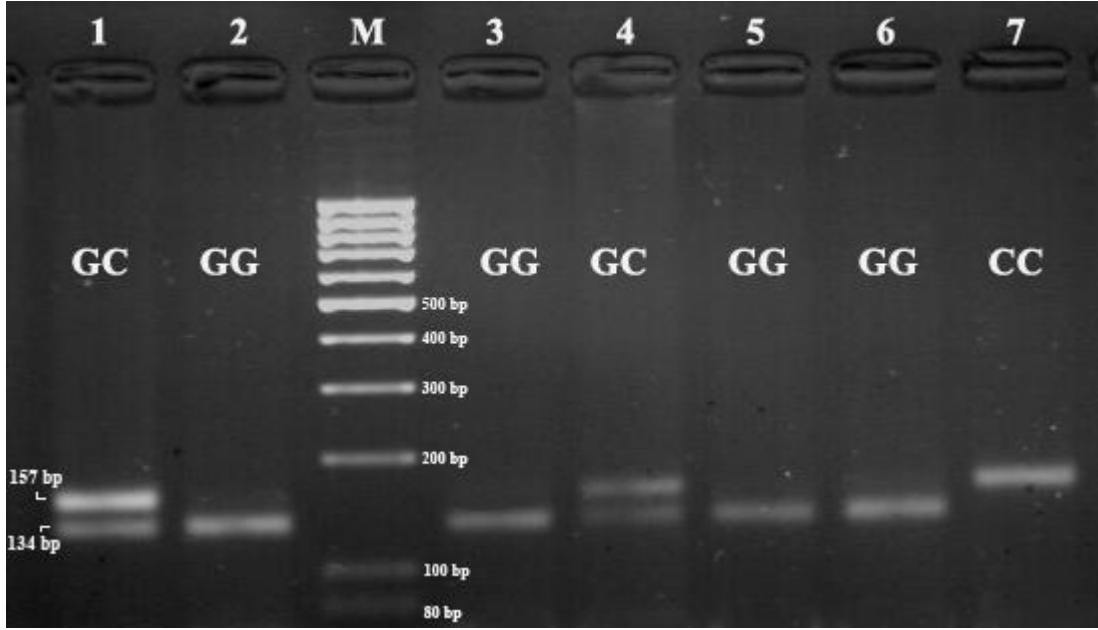
COX-2 geninin 765. pozisyonunu içeren bölgesi PCR yöntemi ile amplifiye edildikten sonra doğru genin amplifiye edilip edilmediğinin kontrolü için % 2'lik agaroz jel kullanılarak elektroforez yapıldı. Jel elektroforezi sonucunda 157 bp'lik bant elde edildi (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. 157 bp'lik COX-2 gen parçalarının PCR sonrasında % 2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: 100 bp'lik markır 1-8: amplifiye olan örnekler

COX-2 geninin 765. pozisyonundaki G→C değişimini belirlemek için PCR ile amplifiye edilen her örneğe Bsh1236I restriksiyon enzimi kullanılarak kesim yapıldı. Kontrol grubuna ait 100 sağlıklı birey ve osteoartrit tanısı konmuş 100 hasta olmak üzere toplam 200 bireyin COX-2 geninin G765C polimorfizmine bakıldı.

COX-2 geninin G765C polimorfizmi için görüntüleme sisteminde 100 bp'lik markıra göre kıyaslama yapıldığında wild type (GG) genotipe sahip kişiler için 134 ve 23 bp'lik iki bant, homozigot (CC) genotipe sahip kişiler için 157 bp'lik tek bir bant ve heterozigot (GC) genotipe sahip kişiler için ise 157, 134 ve 23 bp'lik üç bant elde edildi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. COX-2 G765C gen bölgesinin PCR ürününün Bsh1236I restriksiyon enzimi ile kesiminden elde edilen sonuçlar (% 3'lük agaroz jel elektroforezi). M: 100 bp'lik markır.

Bu çalışma sonucunda kontrol grubunun % 54'ünün wild type (GG), % 35'inin heterozigot (GC) ve % 11'inin ise homozigot (CC) genotipinde olduğu belirlendi. Osteoartritli hasta grubunun ise % 48'inin wild type (GG), % 34'ünün heterozigot (GC) ve % 18'inin ise homozigot (CC) genotipinde olduğu tespit edildi (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Tüm osteoartrit hastaları ve kontrol grubunda COX-2 G765C polimorfizmi genotip dağılımları.

	Osteoartrit n (%)	Kontrol n (%)	Odds Oranı [% 95 CI]	p değeri
Wild type (GG)	48 (% 48)	54 (% 54)	1	
Heterozigot (GC)	34 (% 34)	35 (% 35)	1,1 [0,59-2,01]	0,776
Homozigot (CC)	18 (% 18)	11 (% 11)	1,84 [0,79-4,29]	0,157

Osteoartrit tiplerine göre yapılan genotiplemede ise gonartroz tanısı konmuş 59 kişiden % 44'ünün wild type (GG), % 36'sının heterozigot (GC) ve % 20'sinin homozigot (CC) genotipinde olduğu; lomber spondiloz tanısı konmuş 27 kişiden % 48'inin wild type (GG), % 33'ünün heterozigot (GC) ve % 19'unun homozigot (CC) genotipinde olduğu; servikal spondiloz tanısı konmuş 14 kişiden % 64'ünün wild type

(GG), % 29'unun heterozigot (GC) ve % 7'sinin de homozigot (CC) genotipinde olduğu tespit edildi.

Osteoartritli hasta gruplarının genotip frekansı, kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında hiçbir genotipin osteoartrite yatkınlığı etkilemediği görüldü ($p>0,05$).

Wild type referans olarak alındığında; gonartroz görülme riskine ait odds oranı heterozigotlarda 1,25, homozigotlarda 2,27; lomber spondiloz görülme riskine ait odds oranı heterozigotlarda 1,07, homozigotlarda 1,89; servikal spondiloz görülme riskine ait odds oranı heterozigotlarda 0,69, homozigotlarda ise 0,55 olarak bulundu (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Hasta grubunda (osteoartrit tipine göre) ve kontrol grubunda COX-2 G765C polimorfizmi genotip dağılımları.

Hastalık Grubu	COX-2 G765C Polimorfizmi			Toplam
	Wild type (GG)	Heterozigot (GC)	Homozigot (CC)	
Gonartroz	26 (% 44) Odds Oranı=1	21 (% 36) Odds Oranı=1,25 CI=0,61-2,55 p=0,546	12 (% 20) Odds Oranı=2,27 CI=0,88-5,82 p=0,089	59
Lomber spondiloz	13 (% 48) Odds Oranı=1	9 (% 33) Odds Oranı=1,07 CI=0,41-2,76 p=0,892	5 (% 19) Odds Oranı=1,89 CI=0,56-6,38 p=0,307	27
Servikal spondiloz	9 (% 64) Odds Oranı=1	4 (% 29) Odds Oranı=0,69 CI=0,2-2,4 p=0,555	1 (% 7) Odds Oranı=0,55 CI=0,06-4,76 p=0,583	14
Kontrol	54 (% 54)	35 (% 35)	11 (% 11)	100

Yapılan çalışmada hasta grubunu oluşturan 100 bireyden 82'si kadın 18'i erkektir. Bu durum, osteoartrit hastalığına yakalanma riskinin kadınlarda erkeklere göre 3,04 kat fazla olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyete göre hastalığa yakalanma riskine ait odds oranları.

	Kontrol	Osteoartrit	Odds Oranı	(% 95 CI)	p değeri
Erkek	40	18	1		0,001
Kadın	60	82	3,04	1,59-5,81	

COX-2 G765C polimorfizminin, allel frekanslarının tüm osteoartrit ve osteoartrit gruplarıyla olan ilişkisine bakıldı. Bunun için tüm osteoartrit ve osteoartrit gruplarının allel frekansları ayrı ayrı kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Buna göre tüm osteoartritli hastaların % 65'i G alleleline, % 35'i C alleleline sahip iken (Çizelge 4.7.); gonartrozlu hastaların % 61,9'unun G alleleline, % 38,1'inin C alleleline; lomber spondilozlu hastaların % 64,8'inin G alleleline, % 35,2'sinin C alleleline; servikal spondilozlu hastaların % 78,6'sının G alleleline, % 21,4'ünün ise C alleleline sahip olduğu ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir ilişki olmadığı anlaşıldı (Çizelge 4.8., 4.9., 4.10.).

Çizelge 4.7. Tüm osteoartrit hastaları ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları.

Allel	Kontrol	Osteoartrit	Odds [% 95 CI]	p değeri
G	143 (% 71,5)	130 (% 65)	1 (Referans)	0,767
C	57 (% 28,5)	70 (% 35)	1,07 (0,69-1,64)	

Çizelge 4.8. Gonartroz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları

Allel	Kontrol	Gonartroz	Odds [% 95 CI]	p değeri
G	143 (% 71,5)	73 (% 61,9)	1 (Referans)	0,075
C	57 (% 28,5)	45 (% 38,1)	1,55 (0,96-2,5)	

Çizelge 4.9. Lomber spondiloz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları

Allel	Kontrol	Lomber spondiloz	Odds [% 95 CI]	p değeri
G	143 (% 71,5)	35 (% 64,8)	1 (Referans)	0,341
C	57 (% 28,5)	19 (% 35,2)	1,36 (0,72-2,58)	

Çizelge 4.10. Servikal spondiloz ve kontrol gruplarında COX-2 765. pozisyonunda G ve C allellerinin frekansları

Allel	Kontrol	Servikal spondiloz	Odds [% 95 CI]	p değeri
G	143 (% 71,5)	22 (% 78,6)	1 (Referans)	0,433
C	57 (% 28,5)	6 (% 21,4)	0,68 (0,26-1,78)	

5. TARTIŞMA

Osteoartrit özellikle yaşlılarda kalıcı sakatlığın en önemli sebeplerinden biri olup, bu nedenle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Genellikle non-inflamatuvar özellikteki osteoartrit vakalarında görülen eklem aralığında daralma, eklem kenarlarında osteofit oluşumu, subkondral kemik bölgelerinde kondansasyon ve ufak çaplı kistler sıkça karşılaşılan lokomotor sistem bulgularından birkaçıdır. Osteoartrit vakalarının büyük bir kısmı primer özellikte olmasına rağmen, herhangi bir nedene bağlı olarak gelişen sekonder osteoartrit vakaları da mevcuttur. Özellikle primer osteoartritin etiyojisinde yaş, cinsiyet, şişmanlık, sedanter yaşam tarzı, bireyde osteoporozun bulunmaması, mesleki ve sportif zorlanmalar, geçirilmiş eklem harabiyeti, propriyosepsiyon bozukluğu, sigara ve alkol kullanımı, diyabet ve gut gibi metabolik hastalıkların yanı sıra genetik faktörlerin rolü de önemli bir yer teşkil etmektedir.

Genetik faktörlerin osteoartrit etiopatogenezindeki rolü yapılan tek yumurta ikizleri çalışmalarıyla ve modern moleküler yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin özellikle diz eklemine tutan osteoartrit vakalarında rol oynadığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra kalça, el ve el bileği, bel, boyun, diz, generalize ve idiopatik osteoartrit vakalarında da genetik faktörlerin rolü olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (98).

1960'larda yapılan aile çalışmalarında generalize osteoartrit bulunan kişilerin birinci derece akrabalarında generalize osteoartrit sıklığı diğer bireylere göre iki kat yüksek bulunmuştur. Genetik ve epidemiyolojik çalışmalar sonucunda primer osteoartritin tek bir gen defektinden ziyade, poligenik bir geçiş gösterdiği sonucuna varılmıştır. Daha sonra generalize osteoartritin HLA-A1, HLA-B8 ile ilişkisi rapor edilmiştir. Osteoartrit sıklıkla Mendel'in resesif geçişi kalıtılmaktadır. Ayrıca osteoartritin belli başlı bazı kromozom bölgeleri ile ilişkili olduğu da belirtilmiştir. Osteoartrite yol açan kromozomal düzensizliklerin özellikle 2. kromozomun uzun kolunda görülmesi dikkat çekicidir. Bu kromozomun haricinde 1, 4, 6, 7, 9, 13, 16, 17, 19 ve X kromozomlarında bu genetik düzensizlikler tespit edilmiştir.

Yapılan epigenetik çalışmalar sonucunda nodal osteoartritte 2q23-35, distal falanksal arası eklemden (DIP) 2q12-14, 4q27, Xp11.3 ve 7p22, kalça osteoartritte 16p,

el osteoartritte 1p, 17, 9, 13, 19 ve toplam kalça değişikliğinde (THR) 2q31-32, 4q 12-21, 6p/6q, 16p, COL9A1 gen bölgelerinde değişiklikler tespit edilmiştir (99).

Keen ve arkadaşlarının (100) yaptığı çalışmaya göre VDR, COL1A1, COL2A1, COL9A1, COL11A1, A1ACT, AGC1, IGF-1, östrojen reseptör alfa (ER- α), TGF- β , kartilaj matris protein (CRTM) ve kartilaj link protein (CRTL) genlerinin osteoartrit gelişimiyle ilişkisi olduğu tespit edilmiştir.

Brandi ve arkadaşlarının (101) yaptığı çalışmada VDR geninin bayanlarda diz osteoartriti ve osteofit oluşumu ile ilişkili olup, el, kalça ve idiopatik osteoartrit gelişimi ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir. Aynı araştırmacının yaptığı diğer bir çalışmada COL2A1 geninin primer generalize osteoartrit, kondrodisplazi ve eklem aralığının daralması ile karakterize diz osteoartrite yatkınlığı artırdığı, ancak generalize osteoartrit, nodal generalize osteoartrit, bayanlarda kalça osteoartriti ve parmak eklemi osteoartriti gelişimini etkilemediği anlaşılmıştır. COL1A1 geninin ise bayanlarda idiopatik osteoartrit oluşumunda rol oynadığı, ancak kalça osteoartritin gelişimi ile ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir. ER- α geninin generalize osteoartrit patogenezinin sorumlu olabileceği, ancak idiopatik osteoartrit gelişimi ile bağlantısı olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca TGF- β 1 geninin bel kemiği osteoartrite, IGF geninin generalize osteoartrite ve agregan proteoglikan geninin erkeklerde görülen bilateral el osteoartrite yatkınlığı artırdığı belirtilmiştir.

Osteoartritin ailesel geçiş gösteren hastalıklarla da ilişkisi mevcuttur. Bu hastalıklar arasında, ailesel kalsiyum pirofosfat depo hastalığı, hidroksi-apatit kristal artrit, Stickler sendromu, kondrodisplaziler ve epifiziyal displaziler sayılabilir (101).

45-70 yaşlarındaki 500 eş yumurta ve farklı yumurta ikizi kadın arasında, el ve diz grafileri çekilerek yapılan osteoartrit ikiz çalışmalarında, eş yumurta ikizlerinde osteoartrit görülme sıklığının dizigot ikizlere göre iki kat daha fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu çalışmada, çevresel etkilerden bağımsız genetik etkilerinin osteoartrit gelişimindeki rolü % 39-65 olarak hesaplanmıştır (102).

Eklem kıkırdağını oluşturan kollajenin yapısında meydana gelen mutasyonların osteoartrite yol açabileceği ilk kez Michigan'lı bir ailede gösterilmiştir. Bu ailede tip II kollajeni sentezleyen COL2A1 geninin nükleotid dizisinin 519. pozisyonunda sitozin bazının yerine timinin gelmesi ile 519. pozisyonundaki aminoasitte arjinin yerine sistein (Arj→Sis) oluştuğu anlaşılmıştır. Bu mutasyon daha sonra başka ailelerde de

bildirilmiştir. Arj→Sis bulunan böyle ailelerde ağırlığa maruz kalan ve kalmayan eklemlerde erken osteoartrit ve değişik derecelerde SED görülmektedir. Radyolojik değişiklikler, SED'e ait en erken bulgulardır. COL2A1 Arj⁵¹⁹→Sis mutasyonu görülen ailelerin büyük kısmının İzlanda kökenli olduğuna ilişkin veriler vardır. Bu nedenle bu mutasyonun ortak bir atadan kaynaklandığı düşünülmektedir (103).

Tip II kollajende gösterilen diğer bir mutasyon Arj⁷⁵→Sis mutasyonudur. Bu mutasyonun görüldüğü ailelerde de Arj⁵¹⁹→Sis mutasyonlu ailelerdekine benzer klinik bulgular ortaya çıkmaktadır. Tip II kollajendeki üçüncü Arj→Sis mutasyonu ise 789. pozisyonda saptanmıştır. Diğer iki Arj→Sis mutasyonundan farklı olarak Arj⁷⁸⁹→Sis mutasyonunda erken yaşta SED ortaya çıkar. Arj→Sis mutasyonlarının, sisteinler arasında disülfid bağlarının oluşumuna yol açarak veya kollajen ile matriks proteinlerinin ilişkisini bozarak osteoartrit gelişmesine yol açtığı düşünülmektedir.

Osteoartrit ve SED gelişiminde etkili diğer tüm nokta mutasyonları, kollajenlerde üçlü helikal yapı için zorunlu olan glisin yerine başka aminoasit gelmesi ile ortaya çıkmaktadır. Bu tip mutasyonlar Arj→Sis mutasyonlarının aksine çoğu ailede gösterilememiştir.

SED ve Stickler sendromlarına, Amerika Birleşik Devletleri'nde 1/10.000 sıklığında rastlanmakta olup otozomal dominant bir geçiş gösterirler. Stickler sendromu olan hastalarda, COL2A1 allellerinin birinde prematür durdurucu kodon bulunmakta, bunun sonucu olarak da A zincirinin fonksiyonel bir yarısının sentezi bozulmaktadır (104).

COL2A1 geninde mutasyon olan tüm vakalarda değişik şiddetlerde SED görülür. COL2A1 genindeki mutasyonların yeri ile fenotipik değişikliklerin şiddeti arasında bir ilişki bulunmamaktadır.

COL2A1 genindeki mutasyonlar ile erken osteoartrit ve SED gelişimi bazı ailelerde kesin olarak gösterilmiş olsa da, erken ailesel osteoartrit olanların sadece % 2 kadarında COL2A1 mutasyonu gösterilebilmiştir (104).

Paassilta ve arkadaşlarının (105) yaptığı çalışmada kollajen tip IX A3 zincir genindeki COL9A3 mutasyonların osteoartrit MED'e neden olduğu gösterilmiştir. Bu mutasyon sonucunda tip IX kollajeninde bulunan 12 aminoasit delesyona uğramaktadır. COL9A2 genindeki mutasyon da MED gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Kollajen tip IX'in yapısında meydana gelen değişikliğin displaziye sebep olması, kırık yapılarında

az miktarda bulunan bu kollajenin, kırıkta bütünlüğünde önemli rol oynadığına işaret etmektedir (106).

Osteokondrodizplazide kollajen tip X mutasyonu saptanmıştır. Kollajen tip XI mutasyonlarının da osteoartrit gelişiminde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Nodüler osteoartriti olan ve olmayan kardeşler arasında yapılan bir araştırmada, nodüler osteoartrit gelişimi ile ilgili 2. kromozomun uzun kolunda iki lokus bulunmuştur. Bu lokusa yakın bulunan ve osteoartrit gelişiminde rol oynaması muhtemel olan genler, kollajen tip VI A3 (COL6A3), kollajen tip V A2 (COL5A2), fibronektin-1 (FN1) ve interlökin-8 reseptörüdür (IL8R) (106).

Valdez ve arkadaşlarının (107) yaptığı çalışmada osteoartrit patogeneğinde, CALM1, COL2A1, COMP ve FRZB genlerinin rol oynayıp oynamadığı araştırılmıştır. Buna göre bu genlerdeki polimorfizmlerin özellikle kalça ve diz osteoartritine yakınlığı arttırdığı, ancak cinsiyet ve ırk farklılıklarının bu konuda belirleyici bir rol oynayabileceği bildirilmiştir. FRZB gen polimorfizminin beyaz ırktaki bayanlarda diz osteoartritine yakınlığı arttırdığı, CALM1 gen polimorfizminin Japon'larda kalça osteoartriti gelişimini etkilemediği, COL2A1 polimorfizminin erkeklerde ilginç bir şekilde diz osteoartritine yakınlığı azalttığı, COMP gen polimorfizminin hem erkeklerde hem de kadınlarda diz osteoartriti gelişme riskini arttırdığı bildirilmiştir.

Osteoartritin genetik etiyolojisinde, COL2A1, COL9A1, COL9A2, COL9A3, COL11A1, COL11A2, COMP, CTRL1, CRTM (MATN1) ve MATN3 gibi kartilaj ekstrasellüler matriks ile ilişkili genlerin yanı sıra COX-2, TIMP1, SOD3, MMP-3, TNFAIP6, A1AT, IGF1BP7, IGF-1, ER- α ve FRZB gibi diğer genlerdeki mutasyon ve polimorfizmlerin de rol oynayabileceği bildirilmiştir. Bu genler arasından en ilgi çekici olanları, araziidonik asit metabolizmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genlerdir. Osteoartritli hastaların kartilaj dokularında PGE₂ ekspresyonunun artması ve ayrıca COX-2'nin PGE₂ sentezinde hız sınırlayıcı enzim olması bu düşüncüyü doğrulamaktadır. Bu sebeple COX-2 geninde meydana gelebilecek mutasyon ve polimorfizmler, enzim aktivitesini değiştirmek suretiyle osteoartrite yakınlığı arttırabileceği veya azaltabileceği düşünülmektedir (108).

Son verilere göre COX-2 geninde yaklaşık 124 tek nükleotid polimorfizmi belirlenmiştir. Bunların çok azında fonksiyonel etki görülür (109). -765 G>C polimorfizminde in vitro olarak COX-2 promotör aktivitesinde % 30 azalma

görülmektedir. Yapılan çalışmalarda COX-2 926 G>C polimorfizminin yüksek seviyede COX-2 artışına neden olduğu ve in vitro olarak yine % 30 oranında promotör aktiviteyi azalttığı tespit edilmiştir (110). COX-2 V511A polimorfizmi Afrikalı Amerikalılar arasında % 5 oranında bulunmuş, kolorektal adenom ve karsinomaya karşı koruyucu özellikte olduğu görülmüştür (111). Diğer tek gen polimorfizimleri ve lokalizasyonları C162G promotör, C645T, T10G 5'-UTR ve R228H ekson 6 polimorfizimleridir. Bu polimorfizimlerden üzerinde en fazla çalışılanı -765 G>C polimorfizmidir (112).

COX-2'nin 3' UTR ve promotör bölgesindeki tek gen polimorfizminin prostat, meme, kolorektal, özafagus, gastrik, mesane, safra kesesi kanalı ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (113).

Yapılan çalışmalarda COX-2 -765 G>C polimorfizminin de pek çok hastalıkla ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalıklar arasında akciğer, özafagus, meme ve hepatoselüler karsinoma, başta ateroskleroz olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, akciğer ve karaciğer fibrozisi, kolorektal polipozis, astım ve atopi gibi immünolojik hastalıklar, Alzheimer ve multipl skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar, sistemik lupus eritromatozus, atrofik intestinal metaplazi ve romatoid artrit sayılabilir (112).

Avustralya toplumunda yapılan bir çalışmada COX-2 -765G>C polimorfizminin astım ve atopi ile herhangi bir ilişkisi bulunamamıştır. COX-2 promotör bölgesinde yer alan -765G>C polimorfizminin promotör aktiviteyi azalttığı ve ayrıca koroner arter bypass operasyonundan sonra düşük CRP seviyesi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (114).

Ulrich ve arkadaşları COX-2 -765CC genotipinin NSAİİ kullanmayanlarda, COX-2 -765GG ve COX-2 -765GC genotiplerinin ise NSAİİ kullananlarda kolorektal adenoma riskini azalttığını bildirmişlerdir. Buna göre COX-2 ekspresyonu veya aktivitesi; COX-2 -765GG olan bireyler için aspirin veya NSAİİ kullanımı ile veya ilaç kullanmayan -765CC varyant genotipindekiler için yararlı bir şekilde baskılanarak kolorektal polip riskinin azaltılabileceği sonucuna varılmıştır (115).

Brosens ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada COX-2 inhibisyonunun ailesel adenomatöz polipozis (FAP) hastalarında kolorektal poliplere karşı etkili iken, duodenal polip tedavisinde daha az etkili olduğu görülmüştür. FAP'lı hastalar arasında histolojik olarak normal duodenal mukoza, normal kolonik mukozaya göre daha yüksek COX-2 ekspresyonu göstermiş ve duodenal adenomalardaki COX-2 ekspresyonu kolonik

adenomalardakinden daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca FAP'lı hastaların normal duodenumlarının, sporadik adenomalı hastaların normal duodenal mukozalarından daha yüksek COX-2 ekspresyonu gösterdiği anlaşılmıştır. -765GG genotipindeki FAP hastalarının normal mukozalarındaki COX-2 ekspresyonu, -765GC veya -765CC genotipindekilerden anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. FAP'lı hastaların adenomatöz ve normal duodenal mukozalarındaki yüksek COX-2 ekspresyonu, COX-2 inhibitörlü kimyasallar için bu neoplazmaların yanıtını açıklayabileceği düşünülmektedir (116).

COX-2 -765 promotör polimorfizminin C allelinin Alzheimer hastalığının riskini azalttığı (117), -1195G>A ve -765G>C polimorfizmlerinin özafagus kanserine yatkınlığı arttırdığı (118), -765G>C ve -62C>G polimorfizmlerinin multipl skleroz (MS) ile herhangi bir ilişkisinin bulunmadığı (119) ve -765G>C polimorfizminin atrofik-intestinal metaplazili hastalarda gastrik adenokarsinom riskini yaklaşık olarak 3 kat arttırdığı, bu yüzden diagnostik ve prognostik bir markır olarak kullanılabilceği (97) bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Kore populasyonunda yapılan bir çalışmada -765G>C polimorfizminin sistemik lupus eritematozusa yatkınlığını ve hastalığın prognozunu değiştirmedeği bulunmuş (120); yine Kore populasyonunda yapılan başka bir çalışmada ise -765G>C polimorfizminin romatoid artrit gelişiminde rol oynamadığı gösterilmiştir (121).

Orbe ve arkadaşları -765G>C polimorfizminin, COX-2 ekspresyonunu azalttığını, CRP, Von Willebrand faktörü (vWF) ve IL-6 seviyelerini dūřürdüęünü ve başta ateroskleroz olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların riskini azalttığını göstermişlerdir (122).

Fritsche ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre COX-2 polimorfizmleri gen ekspresyonunu, enzim fonksiyonunu ve bireylerin NSAİİ'a olan yanıtını değiştirebilmektedir. Bu sebeple söz konusu olan polimorfizmler; başta kanser olmak üzere pek çok hastalığın gelişmesi, selektif veya selektif olmayan COX inhibitörlerine olan hassasiyetinin veya yan etkilerinin meydana gelmesi gibi birçok olaya sebebiyet verebileceği bildirilmiştir (123).

COX-2 dışında farklı gen polimorfizmleri ve osteoartrit arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma da mevcuttur. Kerkhof ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada FRZB, reseptör ilişkili protein 5 (LRP5) ve reseptör ilişkili protein 6 (LRP6)

poliformizmlerinin çeşitli osteoartrit türleri (diz kalça ve el) ile olan ilişkisi incelenmiş, ancak herhangi bir ilişki bulunamamıştır (124).

Yunan toplumunda kalmodulin 1 (CALM1) geninin promotöründeki -16 T>C polimorfizmi ile diz osteoartriti arasında herhangi bir ilişki bulunamamış, ancak ASPN D14 ve D15 allellerinin Yunan toplumunda diz osteoartriti için ayırt edici bir markır olabileceği anlaşılmıştır (125).

Başka bir çalışmada da IL-1 β geninin -31 T>C polimorfizmi için diz osteoartriti patogenezi riskini arttırdığı bulunmuştur (126).

Çalışma grubumuzdaki kontrol ve osteoartritli vakalardaki COX-2 -765 G>C polimorfizmi incelendiğinde, kontrol grubunda G allelinin bulunma sıklığı % 71,5, C allelinin bulunma sıklığı ise % 28,5 olarak bulunmuştur. Osteoartrit hastalarında ise G allelinin bulunma sıklığı % 65, C allelinin bulunma sıklığı ise % 35 olarak tespit edilmiştir. Polimorfik C allelinin osteoartrite yakalanma riskini 1,07 (% 95 CI = 0,69-1,64) kat arttırdığı görülmüştür. Gruplar arasındaki allel frekanslarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p = 0,767).

Gruplar genotipik olarak da kıyaslanmış olup hasta grubunda GG, GC, CC genotiplerinin görülme yüzdeleri sırasıyla % 48, % 34 ve % 18, kontrol grubunda ise bu oranlar sırasıyla % 54, % 35 ve % 11 olarak tespit edilmiştir. GC ve CC genotiplerinin osteoartrite yakalanma riskini sırasıyla 1,1 (% 95 CI = 0,59-2,01) ve 1,84 (% 95 CI = 0,79-4,29) kat arttırdığı anlaşılmıştır. Gruplar arasındaki genotip frekanslarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (GC için p = 0,776, CC için p = 0,157).

Çalışmamızın hasta grubunu oluşturan osteoartrit vakaları, tiplerine göre gonartroz, lomber spondiloz ve servikal spondiloz olmak üzere üç grupta incelenmiştir. Her grubun allel ve genotip frekansları tespit edilerek kontrol grubuyla istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. G ve C allellerinin bulunma sıklığı sırasıyla gonartrozlu hastalarda % 61,9 ve % 38,1 lomber spondilozlu hastalarda % 64,8 ve % 35,2, servikal spondilozlu hastalarda ise % 78,6 ve % 21,4 olarak bulunmuştur. Polimorfik C allelinin gonartroza yakalanma riskini 1,55 (% 95 CI = 0,96-2,5) kat, lomber spondiloza yakalanma riskini 1,36 (% 95 CI = 0,72-2,58) kat ve servikal spondiloza yakalanma riskini 0,68 (% 95 CI = % 95 CI = 0,26-1,78) kat arttırdığı belirlenmiştir. Osteoartritin alt gruplarının allel frekanslarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

olmadığı belirlenmiştir (gonartroz için $p = 0,075$, lomber spondiloz için $p = 0,341$ ve servikal spondiloz için $p = 0,433$).

GG, GC ve CC genotiplerinin bulunma sıklığı sırasıyla gonartrozlu hastalarda % 44, % 36 ve % 20, lomber spondilozlu hastalarda % 48, % 33 ve % 19, servikal spondilozlu hastalarda ise % 64, % 29 ve % 7 olarak tespit edilmiş ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kontrol grubunda bulunan bireyler cinsiyetlerine göre COX-2 -765 G>C polimorfizminin allel ve genotip frekansları bakımından değerlendirilmiş ve kadınlarda G allelinin frekansı % 67,6, C allelinin frekansı % 32,4 olarak bulunmuştur. Erkeklerde ise G allelinin frekansı % 69, C allelinin frekansı % 31 olarak tespit edilmiştir. Cinsiyetler arasında COX-2 -765 G>C polimorfizminin bulunması bakımından anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p = 0,665$).

COX-2 -765 G>C polimorfizminin görülme sıklığı ırklar arasında, hatta toplumlar arasında bile farklılık göstermektedir. Yapılan epigenetik çalışmalarda -765GC genotipinin, beyaz ırkta % 33, Afrika kökenli Amerikalılarda % 52 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise GC genotipinin görülme sıklığı % 35 olarak tespit edilmiştir. Tarama yaptığımız popülasyonun genotipsel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen veriler ışığında Türk popülasyonunun COX-2 -765 G>C polimorfizmi bakımından beyaz ırka benzerlik gösterdiğini söylemek mümkündür.

Colaizzo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre İtalyan toplumunda COX-2 -765 G>C polimorfizmi için C allelini taşıma sıklığı % 26 (% 95 CI = 0,23-0,29) olarak bulunmuştur (127). Bizim çalışmamızda ise C alleli % 28,5 olarak saptanmıştır.

Yaptığımız literatür taramasına göre osteoartritli vakalarda COX-2 -765 G>C polimorfizminin varlığı araştırılmamış olup bu polimorfizmin osteoartrite yatkınlığı değiştirip değiştirmediğini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz bu çalışmanın ileride yapılması düşünülen benzer çalışmalara örnek teşkil edebileceğini, ayrıca COX-2 genotiplendirmelerinin osteoartritli bireylerde riski gösterme açısından yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilinen en önemli dejeneratif eklem hastalığı olan osteoartrit, insan lokomotor sisteminde en sık görülen rahatsızlıktır. Özellikle altmış yaş ve üzeri bireylerin immobilizasyon ve propriyosepsiyon bozukluğunun en önemli nedenidir. Eklem kıkırdağının dejenarasyonu ile seyreden osteoartrit, kemik dokusunda da bir takım yapısal değişikliklere yol açabilmektedir. Osteoartritin etiyojisinde çevresel etkenlerin rolü kadar genetik faktörlerin rolünün de olduğu bilinmektedir. Özellikle monozygot ikiz çalışmalarında genetik faktörlerin osteoartrit etiopatogenezindeki rolü kanıtlanmıştır.

Osteoartrit gelişiminde kartilaj ekstrasellüler matriks ile ilişkili genlerin, kemik ile ilişkili genlerin, sitokin ve diğer bazı genlerin rol oynayabileceği yapılan epidemiyolojik ve epigenetik çalışmalarda gösterilmiştir. Osteoartrit patogenezinde arşidonik asit metabolizmasının bozulduğu ve COX-2 geninin ekspresyonunun değiştiği görülmüştür. Dolayısıyla COX-2 enzimini sentezleyen COX-2 genindeki değişikliklerin osteoartrite yakalanma riskini değiştirebileceği düşünülmüştür. Bundan dolayı yaptığımız çalışmada osteoartritli vakalarda COX-2 gen ekspresyonunu en fazla değiştiren promotör bölgedeki -765 G>C polimorfizmi incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre osteoartritli hastalarla kontrol grubu arasında COX-2 -765G>C polimorfizmi açısından anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Bu bulgu da, COX-2 -765 G>C polimorfizminin osteoartrite yatkınlığı etkilemediğini göstermektedir. Ancak osteoartrit ile ilişkisi olabileceği düşünülen birçok genin farmakogenomik çalışmaları henüz yapılmamıştır. Osteoartritli hastalarda bu genlerin analizlerinin mikroarray ve DNA dizi analizi gibi ileri moleküler araştırma yöntemleri ile yapılması sayesinde, genetik faktörlerin bu hastalığın oluşumundaki etkisi kesin olarak tespit edilebilecektir. Bu sayede söz konusu genlerinde mutasyon veya polimorfizm bulunan bireylerin ileri yaşlarda osteoartrit ve lokomotor sistemi olumsuz etkileyen diğer dejeneratif eklem hastalıklarına yatkınlıkları önceden tespit edilebilecek ve gerekli önlemler alınabilecektir.

6. KAYNAKLAR

1. **Cooper C, Klippel JH, Dieppe PH.** Osteoarthritis and related disorders (Epidemiology). *Rheumatology*, **1997**; 8(2): 2-8.
2. **Karaaslan Y.** *Osteoartri*, 1. Basım, Ankara: MD Yayıncılık, **2000**.
3. **Dozin B, Malpell M, Camardella L, Cancedda R, Pietrangelo A.** Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to immatory cytokines: molecular and cellular aspects. *Matrix Biol*, **2002**; 21: 449-459.
4. **Lequesne M, Lamotte J, Samson M.** Quality of life and functional indices in osteoarthritis. *Rev Rhum Ed Fr*, **1993**; 60(5): 23-29.
5. **Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, Lotz M.** Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, **1998**; 41(9): 1632-1638.
6. **Campo GM, Avenoso A, Campo S, Ferlazzo AM, Altavilla D, Calatroni A.** Efficacy of treatment with glycosaminoglycans on experimental collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis Res Ther*, **2003**; 5(3): 122-131.
7. **Wilder RL, Schumacher HR, Klippel JH, Koopman WJ.** An epidemiology, pathology and pathogenesis in primer on the rheumatic diseases. *Rheumatoid Arthritis*, **1993**; 86-89.
8. **Liu J, Seibold SA, Rieke CJ, Song I, Cukier RI, Smith WL.** Prostaglandin endoperoxide H synthases: peroxidase hydroperoxide specificity and cyclooxygenase activation. *J Biol Chem*, **2007**; 282(25): 18233-18244.
9. **Burdan F, Chalas A, Szumilo J.** Cyclooxygenase and prostanoids--biological implications. *Postepy Hig Med Dos.*, **2006**; 60: 129-141.
10. **Bakhle YS.** Structure of COX-1 and COX-2 enzymes and their interaction with inhibitors. *Drugs Today*, **1999**; 35(4-5): 237-250.
11. **Vane JR, Bakhle YS, Botting RM.** Cyclooxygenases 1 and 2. *Pharmacol Toxicol*, **1998**; 38: 97-120.
12. **Cambria JA, Gandhi PJ.** Aspirin resistance and genetic polymorphisms. *J Thromb Thrombolysis*, **2002**; 14(1): 51-58.
13. **Altman R, Asch E, Bloch D.** The American College Reumatology Criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*, **1986**; 29: 1039-1049.
14. **Silver FH, Bradica G, Tria A.** Viscoelastic behavior of osteoarthritic cartilage. *Connect Tissue Res*, **2001**; 42(3): 223-233.

15. **Harry B.** Current Diagnosis & Treatment in Orthopedics. Ed.: Skinner. Appleton & Lange Co. **1995.**
16. **Van Saase CM, Van Romunde KJ, Cats A.** Epidemiology of osteoarthritis: Zoetermeer survey. Comparison of radiologic osteoarthritis in a Dutch population with that in 10 other populations. *Ann Rheum Dis*, **1989**; 48: 271-280.
17. **Mankin HJ, Kelley WN, Harris ED.** Clinical features of osteoarthritis. *W.B. Saunders Company*, **1993**; 1374-1385.
18. **Peyron JG, Altman RD.** The epidemiology of osteoarthritis. In osteoarthritis: Diagnosis and Management. *W.B. Saunders Company*, **1992**; 15-38.
19. **Kallman DA, Wigley FM, Scot WW.** New radiographic grading scales for osteoarthritis of the hand: reliability for determining prevalence and progression. *Arthritis Rheum*, **1989**; 32: 1584-1591.
20. **Wilson MG, Michet CJ, Ilstrup DM.** Idiopathic symptomatic osteoarthritis of the hip and knee: a population based incidence study. *Mayo Clin Proc*, **1990**; 65: 1214-1221
21. **Oliveria SA, Felson DT, Reed JJ.** Incidence of symptomatic hand, hip and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organisation. *Arthritis Rheum*, **1995**; 38(1): 134-141.
22. **Brandt K, Lohmander LS, Doherty M, Doherty M, Lohmander LS.** Pathogenesis of osteoarthritis. introduction: the concept of OA as failure of the diarthrodial joint. *Osteoarthritis*, **1998**; 70-74.
23. **Jimenez SA, Williams CJ, Karasick D, Brandt K, Doherty M, Lohmander LS.** Hereditary osteoarthritis. *Osteoarthritis*, **1998**; 31-49.
24. **Stockweli RA.** Cartilage failure in osteoarthritis: relevance of normal structure and function: a review. *Clin Anat*, **1990**; 4: 161-191.
25. **Mankin HJ, Brandt KD, Moskowitz RW.** Biochemistry and metabolism of cartilage in osteoarthritis. Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management. *Bull Rheum Dis*, **1992**; 109-1054.
26. **Biand JH, Cooper SM.** Osteoarthritis: a review of the cell biology involved and evidence for reversibility. Management rationally related to known genesis and pathophysiology. *Semin Arthritis Rheum*, **1984**; 14: 106-133.
27. **Radin EL, Burr DB.** Hypothesis: Joints can heal. *Semin Arthritis Rheum*, **1984**; 13: 293-302.
28. **Mankin HJ.** The reaction of cartilage to injury and osteoarthritis. *N Engl J Med*, **1974**; 291: 1285-1292.
29. **Kuettner KE, Thonar MA, Aydelotte MB, Brandt KD.** Modern aspect of articular cartilage biochemistry. Cartilage changes in osteoarthritis. Indianapolis. *Ann Rheum Dis*, **1990**; 3-11.
30. **Rajzbaum G, Barthas J.** Preventive surgery in the course of secondary coxarthrosis. *Rev Prat*, **1999**; 188(13): 33-35.

31. **Van den Berg WB.** Articular cartilage: cause or victim in arthritis. *Scand J Rheumatol*, **1995**; 25(101): 31-37.
32. **Qi WN, Sculiy SP.** Extracellular collagen modulates the regulation of chondrocytes by transforming growth factor. *J Orthop Res*, **1997**; 15: 483-490.
33. **Lafeber FP, van Roy HL, van der Kraan PM.** Transforming growth factor-beta predominantly stimulates phenotypically changed chondrocytes in osteoarthritic human cartilage. *J Rheumatol*, **1997**; 24: 536-542.
34. **Martin JA, Ellerbroek SM, Buckwalter JA.** Age-related decline in chondrocyte response to insulin-like growth factor-1: the role of growth factor binding proteins. *J Orthop Res*, **1997**; 15: 491-498.
35. **Lafeber FP, van der Kraan PM.** Osteoarthritic human cartilage is more sensitive to transforming growth factor beta than is normal cartilage. *Br J Rheumatol*, **1993**; 32: 281-286.
36. **Smith P, Shuler FD, Georgescu HL.** Genetic enhancement of matrix synthesis by articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*, **2000**; 43: 1156-1164.
37. **Hutton C.** Generalised osteoarthritis: an evolutionary problem. *The Lancet*, **1987**; 2: 1463-1465.
38. **Bomalaski JS, Clark MA.** Phospholipase A2 and arthritis. *Arthritis Rheum*, **1993**; 36: 190-198.
39. **Gilman SC, Chang J.** Characterization of interleukin 1 induced rabbit chondrocyte phospholipase A2. *J Rheumatol*, **1990**; 17: 1392-1396.
40. **Ryu SB, Lee HY, Doelling JH, Palta JP.** Characterization of a cDNA encoding Arabidopsis secretory phospholipase A2-alpha, an enzyme that generates bioactive lysophospholipids and free fatty acids. *Biochim Biophys Acta*, **2005**; 1736(2): 144-151.
41. **Van Rossen ME, Hofland LJ, Van Den Tol MP, Van Koetsveld PM, Jeekel J, Marquet RL, Van Eijck CH.** Effect of inflammatory cytokines and growth factors on tumour cell adhesion to the peritoneum. *J Pathol*, **2001**; 193(4): 530-537.
42. **Ndongo S, Ka MM, Leye A, Diallo S, Niang EH, Sy MH, Moreira Diop T.** Epidemiological and clinical features of the knee osteoarthritis. *Dakar Med*, **2003**; 48(3): 171-175.
43. **Dieppe P, Klippel JH.** Osteoarthritis: Introduction and history. *Rheumatology*, **1998**; 8(1): 1-2.
44. **Dieppe P, Lim KT, Klippel JH.** Osteoarthritis: Clinical features and diagnostic problems. *Rheumatology*, **1998**; 8(3): 1-16.
45. **Lapinska G, Niewiadomska J, Benke M, Niesluchowski W, Benke G, Kozłowicz-Gudzinska I.** The diagnostic value of bone scintigraphy in patients with back pain. *Ortop Traumatol Rehabil*, **2004**; 6(2): 207-212.
46. **Balint G, Szebenyi B.** Diagnosis of osteoarthritis. Guidelines and current pitfalls. *Drugs*, **1996**; 52(3): 1-13.
47. **Güler M, Aydeniz A.** Osteoartritin Risk Faktörleri. *Osteoartrit*. 1. Baskı, Ankara: MD Yayıncılık, **2000**:5-8.
48. **Sarıdoğan ME.** Osteoartrit. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Romatolojik Hastalıklar Sempozyum Dizisi No: 34*. **2003**; 11-18.

49. **Hart DJ, Mootoosamy I, Doyle DV, Spector TD.** The relationship between osteoarthritis and osteoporosis in the general population: The Chingford Study. *Ann Rheum Dis*, **1994**; 53(3): 158-162.
50. **Zazimyi IM.** The current concepts of the etiology and pathogenesis of osteoarthrosis. *Lik Sprava*, **1999**; (2): 7-12.
51. **Huber M, Trattnig S, Lintner F.** Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage. *Invest Radiol*, **2000**; 35:573-580.
52. **Zhu Y, Ogenesian A, Keene DR, Sandell LJ.** Type IIA procollagen containing the cysteine-rich amino propeptide is deposited in the extracellular matrix of prechondrogenic tissue and binds to TGF- β 1 and BMP-2. *J Cell Biol*, **1998**; 144:1069-1080.
53. **Bleasel JF, Holderbaum D, Brancolini V, Moskowitz RW, Considine EL, Prockop DJ, Devoto M, Williams C.** Five families with arginine 519-cysteine mutation in COL2A1: evidence for three distinct founders. *Hum Mutat*, **1998**; 12:172-176.
54. **Lohiniva J, Paassilta P, Seppanen U, Vierimaa O, Kivirikko S, Ala-Kokko L.** Splicing mutations in the COL3 domain of collagen IX cause multiple epiphyseal dysplasia. *Am J Med Genet*, **2000**; 90(3): 216-222.
55. **Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Boonen S.** Lack of association between osteoarthritis of the hip and gene polymorphisms of VDR, COL1A1, and COL2A1 in postmenopausal women. *Arthritis Rheum*, **1998**; 41(11): 1946-1950.
56. **Kimura T, Nakata T, Tsumaki N, Miyamoto S, Matsui Y, Ebara S, Ochi T.** Progressive degeneration of articular cartilage and intervertebral discs. An experimental study in transgenic mice bearing a type IX collagen mutation. *Int Orthop*, **1996**; 20:177-181.
57. **Lui VCH, Kong RYC, Nicholls J, Cheung ANY, Cheak KSE.** The mRNAs for the three chains of human collagen type XI are widely distributed but not necessarily co-expressed: implications for homotrimeric, heterotrimeric and heterotypic collagen molecules. *Biochem J*, **1995**; 311:511-516.
58. **Kornak U, Mundlos S.** Genetic disorders of the skeleton: a developmental approach. *Am J Hum Genet*, **2003**; 73:447-474.
59. **Maeda S, Ishidou Y, Koga H, Taketomi E, Ikari K, Komiya S, Takeda J, Sakou T, Inoue I.** Functional impact of human collagen α 2(XI) gene polymorphism in pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *J Bone Miner Res*, **2001**; 16:948-957.
60. **Williams FM, Andrew T, Saxne T, Heinegard D, Spector TD, MacGregor AJ.** The heritable determinants of cartilage oligomeric matrix protein. *Arthritis Rheum*, **2006**; 54(7): 2147-2151.
61. **Masuko K, Murata M, Nakamura H, Yudoh K, Nishioka K, Kato T.** Sphingosine-1-phosphate attenuates proteoglycan aggrecan expression via production of prostaglandin E2 from human articular chondrocytes. *BMC Musculoskelet Disord*. **2007**; 8(1): 29.
62. **İnce AT, Övünç O.** Cyclooxygenase-2 ve Karsinogenez. *Güncel Gastroenteroloji*. **2005**; 9(1): 70-77.

63. **Woszczek G, Pawliczak R, Kowalski ML.** Leukotrienes as inflammation mediators. *Postepy Hig Med Dosw*, **2003**; 57(5): 593-610.
64. **Durusoy Ç, Güleç AT.** Dermatolojide Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçların Kullanımı. *Dermatose*, **2004**; 186-191.
65. **Smith JB, Willis AL.** Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nat New Biol*, **1971**; 25: 235-237.
66. **Vane JR, Botting RM.** A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*, **1995**; 23: 41-48.
67. **Abramson SB, Weissmann G.** The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum*, **1989**; 32: 1-9.
68. **Raz A, Wyche A, Needleman P.** Temporal and pharmacological division of fibroblast cyclooxygenase expression into transcriptional and translational phases. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1989**; 5: 1657-1661.
69. **Raz A, Wyche A, Siegel N.** Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1. *J Biol Chem*, **1988**; 6: 3022-3028.
70. **Fu JY, Masferrer JL.** The induction and suppression of prostaglandin H₂ synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem*, **1990**; 28: 16737-1640.
71. **Needleman P, Isakson PC.** The discovery and function of COX-2. *J Rheumatol Suppl*, **1997**; 49: 6-8.
72. **Herschman HR.** Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta*, **1996**; 1: 125-140.
73. **Funk CD, Funk LB, Kennedy ME.** Human platelet / erythroleukemia cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. *FASEB J*, **1991**; 9: 2304-2312.
74. **Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT.** Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res*, **1996**; 19: 4424-4429.
75. **Inoue H, Yokoyama C, Hara S.** Transcriptional regulation of human prostaglandin-endoperoxide synthase-2 gene by lipopolysaccharide and phorbol ester in vascular endothelial cells. Involvement of both nuclear factor for interleukin-6 expression site and cAMP response element. *J Biol Chem*, **1995**; 42: 24965-24971.
76. **Sheng H, Shao J, Dixon DA.** Transforming growth factor-beta1 enhances Ha-ras-induced expression of cyclooxygenase- 2 in intestinal epithelial cells via stabilization of mRNA. *J Biol Chem*, **2000**; 9: 6628-6635.
77. **Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO.** Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol*, **2001**; 9: 544-551.
78. **Williams CS, DuBois RN.** Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *Am J Physiol*, **1996**; 3: 393-400.

79. **Patrignani P.** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, COX-2 and colorectal cancer. *Toxicol Let*, **2000**; 493–498.
80. **Süleyman H, Demircan B, Karagöz Y.** Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacol Rep*, **2007**; 59: 247-258.
81. **Merlie JP, Fagan D, Mudd J, Needleman P.** Isolation and characterization of the complementary DNA for sheep seminal vesicle prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase). *J Biol Chem*, **1988**; 263: 3550-3553.
82. **Dewitt DL, Smith WL.** Primary structure of prostaglandin G/H synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1988**; 85: 1412-1416.
83. **Yokoyama C, Tanabe T.** Cloning of human gene encoding prostaglandin endoperoxide synthase and primary structure of the enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, **1989**; 165:888-894.
84. **Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR.** TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem*, **1991**; 266:12866-12872.
85. **Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL.** Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1991**; 88: 2692-2696.
86. **Hla T, Neilson K.** Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1992**; 89: 7384-7388.
87. **Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM.** Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *J Biol Chem*, **1993**; 268:9049-9054.
88. **Tanabe T, Tohnai N.** Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostagland Lipid Mediat*, **2000**; 68–9: 95–114.
89. **Kosaka T, Miyata A, Ihara H, Hara S, Sugimoto T, Takeda O.** Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Eur J Biochem*, **1994**; 221: 889-897.
90. **Smith CJ, Morrow JD, Roberts II LJ, Marnett LJ.** Differentiation of monocytoid THP-1 cells with phorbol ester induces expression of prostaglandin endoperoxide synthase-1 (COX-1). *Biochem Biophys Res Commun*, **1993**; 192:787–793.
91. **Morita I.** Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins & Other Lipid Mediat*, **2002**; 68(69): 165–175.
92. **Su B, Karin M.** Mitogen-activated protein kinase cascades and regulation of gene expression. *Curr Opin Immunol*, **1996**; 8: 402-411.
93. **Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM.** Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem*, **2000**; 69: 145-182.

94. **Nihiro H, Otsuka T, Izuhara K, Yamaoka K, Ohshima K, Tanabe T.** Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils. *Blood*, **1997**; 89: 1621–1628.
95. **Boerboom D, Sirois J.** Molecular characterization of equine prostaglandin G/H synthase-2 and regulation of its messenger ribonucleic acid in preovulatory follicles. *Endocrinology*, **1998**; 139: 1662–1670.
96. **Poncz M, Solowiejczyk D, Harpel B, Mory Y, Schwartz E, Surrey S.** Construction of human gene libraries from small amounts of peripheral blood: Analysis of beta-like globin genes. *Hemoglobin*, **1982**; 6: 27.
97. **Pereira C, Sousa H, Ferreira P, Fragoso M, Moreira-Dias L, Lopes C, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M.** -765G > C COX-2 polymorphism may be a susceptibility marker for gastric adenocarcinoma in patients with atrophy or intestinal metaplasia. *World J Gastroentero*, **2006**; 12(34): 5473-5478.
98. **Allen KD, Oddone EZ, Stock JL, Coffman CJ, Lindquist JH, Juntilla KA, Lemmerman DS, Datta SK, Harrelson ML, Weinberger M, Bosworth HB.** The Self-Management of Osteoarthritis in Veterans (SeMOA) Study: Design and Methodology. *Contemp Clin Trials*, **2007**; 42-47.
99. **Tim D, MacGregor AJ.** Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis Cartilage*, **2004**; 12(1): 39-44.
100. **Keen RW, Snieder H, Molloy H, Daniels J, Chiano M, Gibson F.** Evidence of association and linkage disequilibrium between a novel polymorphism in the transforming growth factor b1 gene and hip bone mineral density: a study of female twins. *Rheumatology*, **2001**; 40: 48–54.
101. **Brandi ML, Gennari L, Cerinic MM, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Gennari C, Reginster JY.** Genetic markers of osteoarticular disorders: facts and hopes. *Arthritis Res*, **2001**; 3(5): 270-280.
102. **Spector TD, Cicuttini F, Baker J, Loughlin J, Hart D.** Genetic influences on osteoarthritis in women: a twin study. *BMJ*, **1996**; 312(7036): 940-943.
103. **Adachi E, Katsumata O, Yamashina S, Prockop DJ, Fertala A.** Collagen II containing a Cys substitution for Arg-alpha1-519. Analysis by atomic force microscopy demonstrates that mutated monomers alter the topography of the surface of collagen II fibrils. *Matrix Biol*, **1999**; 18(2): 189-196.
104. **Cicuttini FM, Spector TD.** The epidemiology of osteoarthritis of the hand. *Rev Rhum Engl Ed*, **1995**; 62(1): 3-8.
105. **Paasilta P, Lohiniva J, Annunen S, Bonaventure J, Le Merrer M, Pai L, Ala-Kokko L.** COL9A3: A third locus for multiple epiphyseal dysplasia. *Am J Hum Genet*, **1999**; 64(4): 1036-1044.
106. **Holderbaum D, Haqqi TM, Moskowitz RW.** Genetics and osteoarthritis: exposing the iceberg. *Arthritis Rheum*, **1999**; 42(3): 397-405.
107. **Valdes AM, Loughlin J, Oene MV, Chapman K, Surdulescu GL, Doherty M, Spector TD.** Sex and ethnic differences in the association of ASPN, CALM1, COL2A1, COMP, and FRZB with genetic susceptibility to osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*, **2007**; 137-146.

108. **Takahashi E, Hori T, Sutherland GR.** Mapping of the human type II collagen gene (COL2A1) proximal to fra(12) (q13.1) by nonisotopic in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, **1990**; 54:84-85.
109. **Shen J, Gammon MD, Terry MB, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM.** Genetic polymorphisms in the cyclooxygenase-2 gene, use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and breast cancer risk. *Breast Cancer Research*, **2006**; 8(6): 71-80.
110. **Papafili A, Hill MR, Brull DJ, McAnulty RJ, Marshall RP.** Common promoter variant in cyclooxygenase- 2 represses gene expression: evidence of role in acute-phase inflammatory response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2002**; 22: 1631-1636.
111. **Lin HJ, Lakkides KM, Keku TO.** Prostaglandin H synthase 2 variant (Val511Ala) in African Americans may reduce the risk for colorectal neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2002**; 11:1305 – 1315.
112. **Fritsche E, Baek SJ, King ML.** Functional Characterization of Cyclooxygenase-2 Polymorphisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2001**; 299(2):468-476.
113. **Marshall SF, Bernstein L, Anton-Culver H, Deapen D, Horn-Ross PL.** Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and breast cancer risk by stage and hormone receptor status. *J Natl Cancer Inst*, **2005**; 97:805-812.
114. **Shi J, Misso NL, Duffy DL, Thompson PJ, Kedda MA.** A functional polymorphism in the promoter region of the cyclooxygenase-2 gene is not associated with asthma and atopy in an Australian population. *Clin Exp Allergy*, **2004**; 34(11):1714-1718.
115. **Ulrich CM, Whitton J, Yu JH, Sibert J, Sparks R, Potter JD, Bigler J.** PTGS2 (COX-2) -765G > C promoter variant reduces risk of colorectal adenoma among nonusers of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2005**; 14(3):616-619.
116. **Brosens LA, Iacobuzio-Donahue CA, Keller JJ, Hustinx SR, Carvalho R, Morsink FH, Hyland LM, Offerhaus GJ, Giardiello FM, Goggins M.** Increased cyclooxygenase-2 expression in duodenal compared with colonic tissues in familial adenomatous polyposis and relationship to the -765G > C COX-2 polymorphism. *Clin Cancer Res*, **2005**; 11(11):4090-4096.
117. **Abdullah L, Ait-Ghezala G, Crawford F, Crowell TA, Barker WW, Duara R, Mullan M.** The cyclooxygenase 2 -765 C promoter allele is a protective factor for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, **2006**; 395(3):240-243.
118. **Zhang J, Zhou C, Ding F, Luo A, Wu M, Zhan Q, Liu Z.** Significance of COX-2 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, **2006**; 27(6):1214-1221.
119. **Mazzola S, Lira MG, Benedetti MD, Salviati A, Ottaviani S, Malerba G, Ortombina M, Pignatti PF.** COX-2 promoter region polymorphisms in multiple sclerosis: lack of association of -765G>C with disease risk. *Int J Immunogenet*, **2007**; 34(2):71-74.
120. **Her MY, El-Sohemy A, Cornelis MC, Kim TH, Bae SC.** Cyclooxygenase-2 polymorphisms and risk of systemic lupus erythematosus in Koreans. *Rheumatol Int*, **2006**; 27(1):1-5.
121. **Lee KH, Kim HS, El-Sohemy A, Cornelis MC, Uhm WS, Bae SC.** Cyclooxygenase-2 genotype and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, **2006**; 33(7):1231-1234.

122. **Orbe J, Beloqui O, Rodriguez JA, Belzunce MS, Roncal C, Paramo JA.** Protective effect of the G-765C COX-2 polymorphism on subclinical atherosclerosis and inflammatory markers in asymptomatic subjects with cardiovascular risk factors. *Clin Chim Acta*, **2006**; 368(1-2):138-143.
123. **Fritsche E, Baek SJ, King LM, Zeldin DC, Eling TE, Bell DA.** Functional characterization of cyclooxygenase-2 polymorphisms. *J Pharmacol Exp Ther*, **2001**; 299(2):468-476.
124. **Kerkhof JM, Uitterlinden AG, Valdes AM, Hart DJ, Rivadeneira F, Jhamai M, Hofman A, Pols HA, Bierma-Zeinstra SM, Spector TD, van Meurs JB.** Radiographic osteoarthritis at three joint sites and FRZB, LRP5, and LRP6 polymorphisms in two population-based cohorts. *Osteoarthritis Cartilage*. (baskıda).
125. **Poulou M, Kaliakatsos M, Tsezou A, Kanavakis E, Malizos KN, Tzetis M.** Association of the CALM1 Core Promoter Polymorphism with Knee Osteoarthritis in Patients of Greek Origin. *Genet Test*, **2008**; 12(2):263-265.
126. **Kanoh T, Hasegawa Y, Masui T, Yamaguchi J, Ishiguro N, Hamajima N.** Interleukin-1beta gene polymorphism associated with radiographic signs of osteoarthritis of the knee. *J Orthop Sci*, **2008**; 13(2):97-100.
127. **[Colaizzo D](#), [Fofi L](#), [Tiscia G](#), [Guglielmi R](#), [Cocomazzi N](#), [Prencipe M](#), [Margaglione M](#), [Toni D](#).** The COX-2 G/C -765 polymorphism may modulate the occurrence of cerebrovascular ischemia. *Blood Coagul Fibrinolysis*, **2006**; 7(2):93-96.

ÖZGEÇMİŞ

21 Aralık 1979 tarihinde Tarsus'ta doğdu. İlkokulu Mersin Atatürk İlkokulu'nda, orta ve lise eğitimini Mersin Gazi Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında girdiği Çukurova Üniversitesi Adana Meslek Yüksekokulu Bilgisayar Programcılığı Bölümü'nden 1999 yılında mezun oldu. Daha sonra 2000 yılında kazandığı Muğla Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı bölümde yüksek lisans öğrencisi olarak devam etmektedir.