

T.C
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

TERAPÖTİK ULTRASONUN ISI ŞOK PROTENİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Hamide GÜLER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI:

Prof. Dr. Hasan ELDEN

SİVAS

2008

T.C
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

TERAPÖTİK ULTRASONUN ISI ŞOK PROTENİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Hamide Güler

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2008

C.Ü. TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ OLARAK kabul edilmiştir.

BAŞKAN:

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.../.../2008

DEKAN

Prof. Dr. Okay BULUT

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen 'Tez Yazım Klavuzu'na göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR.

Eğitimim süresince engin bilgi, beceri ve deneyimlerinden yararlandığım, hiçbir zaman destek ve imkanlarını esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Sami HİZMETLİ'ye, Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyelerinden tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hasan ELDEN'e, Sayın Doç. Dr. Ece Kaptanoğlu'na, uzmanlık eğitimim boyunca yaptıkları akademik katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca, hasta grubunun toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Zekeriya ÖZTEMUR'a, örneklerin değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. M. Zahir BAKICI'ya, kendi abim kadar sevdiğim Sayın Yrd. Doç. Dr. Ersin TUNCER'e ve Yrd. Doç. Dr. Yusuf Tutar'a, çalışma verilerinin istatistiği konusundaki yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi uzmanlık eğitimim boyunca ve bu çalışmam sırasında da beni sürekli manevi açıdan destekleyen aileme, bölüm sekreterimiz Sonday MUSUL'a ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Ultrason fizik tedavide derin ısıtıcı olarak kullanılan bir fizik tedavi ajanıdır. Ultrasonik ses dalgalarının çeşitli vücut dokularında emilimi ve yansıması sonucu ısı artışı ortaya çıkar. Ultrasonun vücut dokularında elastikiyeti artırma, damarların vazodilatasyonu ile dokuların aldığı oksijen miktarını artırıp, metabolik atıkların daha kolay uzaklaştırılması nedeniyle hasarlı dokuda iyileştirmeyi hızlandırıcı etkisi vardır. Bu çalışmada ultrasonun dokularda ısı artışı etkisine bağlı olarak ısı şok proteinlerinde (HSP 70) artışa yol açıp açmadığı ve bunun klinik düzelme ile korele olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık.

Yöntem: Bu çalışmada CÜTF Hastenesi Ortopedi / Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı'na başvuran, meniskopatili/gonartrozlu/anterior krusiyat ligament yaralanması nedeniyle artroskopi ve artroplasti yapılan hastalardan 41 hasta çalışmaya alındı. 1.gruba artroskopi öncesi ultrason tedavisi uygulandı. 2.gruba plasebo ultrason uygulanır iken; 3. gruba ultrason tedavisi yapılmadı. Artroskopi/artroplasti esnasında alınan sinovyal dokuda immünohistokimyasal olarak ve ELISA yöntemiyle HSP 70 protein ekspresyonu incelendi.

Sonuçlar: ELISA ile değerlendirilen HSP 70 protein ekspresyon değerleri; kontrol grubunda $13,42 \pm 22,03$ ng/ml; plasebo grubunda $42,75 \pm 0,3477$ ng/ml; ultrason grubunda $23,37 \pm 28,97$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0,003$). İstatistiksel olarak kontrol ve plasebo grubundaki farklılık anlamlı bulunurken; kontrol - ultrason grubu ve plasebo- ultrason grubu arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur. Sinovyal dokuda immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.005$).

Yorum: Grupların heterojen özellikte olması, ultrason yapıldıktan sonra sinovyal dokunun alınma zamanının tüm bireylerde farklı olması ve gruplardaki hasta sayısının azlığı nedeniyle, gruplar arasında dokularda HSP 70 protein ekspresyonu açısından fark saptanamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Osteoartrit, Ultrason, ısı şok proteini 70 ekspresyonu

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:T-303).

SUMMARY

Objective: Ultrasound is a physical treatment device used as a deep warmer. Absorbtion and reflection of the ultrasonic sound waves from several body tissues results in heat production. Ultrasound has an accelerating effect on the injured tissues by increasing the elastisity, increasing the oxygen amount taken by the tissues as a result of vasodilatation and facilitating the removal of metabolic vaste products. In the present study the aim was the determination of heat shock protein (HSP 70) levels due to the increase in temperature produced by ultrasound waves and if this condition was correlated with clinical improval.

Methods: In the present study 41 patients who suffered from meniscopathy, gonarthrosis and anterior cruciate ligament injury and admitted to Cumhuriyet University Orthopaedics/Physical Medicine and Rehabilitation Clinics and underwent arthroscopic/arthroplasty examination was included into the study. First group was applied ultrasound treatment before arthroscopic examination, second group was applied placebo ultrasound and the third group had no ultrasound treatment. Synovial tissue biopsies taken during the arthroscopic/arthroplasty examination were analysed for HSP 70 protein expression by immunohistochemical and ELISA methods.

Results: In the evaluation of HSP 70 by ELISA method, HSP 70 expression values were found $13,42 \pm 22,03$ ng/ml in the control group; $42,75 \pm 0,3477$ ng/ml in the placebo group and $23,37 \pm 28,97$ ng/ml in the ultrasound group ($p=0,003$). There was a statistically significant difference between control and placebo groups but no difference were seen between control-ultrasound and placebo-ultrasounds groups. In immunohistopathological examination HSP 70 expression showed no statistically significant difference between three groups ($p>0.005$).

Conclusion: Since all the groups had a heterogenic nature in respect to disease, time intervals of biopsies were different in all the individuals and the number of patients in all groups were limited, HSP 70 expression might have shown no significant difference between the groups.

Key Words: Osteoarthritis, ultrasound, expression of heat shock protein 70.

This study was supported by Cumhuriyet University Scientific Research Projects Committee. (Project no:T-303)

SİMGELER VE KISALTMALAR

OA: Osteoartrit

MMP: Matriks metallo proteinazlar

ADAMTS: Trombospondin-1 benzeri zincir içeren, disintegrin ve metalloproteinaz

IL: İnterlökin

TNF: Tümör nekrozis faktör

TGF: Transforming büyüme faktörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

BMP: Kemik morfogenetik protein

NO: Nitrik oksit

INOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz

L-NIL: N-iminoethyl-L-lyzine

CRP: C reaktif protein

RF: Romatoid faktör

ANA: Anti nükleer antikor

ACR: Amerikan Romatizma Cemiyeti

US: Ultrason

HSP: Isı şok proteini

TLR: Toll like reseptör

SRE: Serum cevap elementi

ICAM 1: İnterselüler adezyon molekülü 1

VCAM 1: Vasküler hücre adezyon molekülü 1

HSF: Isı şok faktörü

HSE: Isı şok elementi

TABLULAR

Tablo1: Gruplardaki bireylerin yaş, vücut kitle indeksi (BMI)ve cinsiyet yönünden karşılaştırılması

Tablo 2: Her 3 gruptaki bireylerin ELISA ile değerlendirilen HSP 70 protein ekspresyon sonuçları yönünden karşılaştırılması

Tablo 3: Her 3 gruptaki bireylerin sinovyal doku epitelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyon yönünden karşılaştırılması

Tablo 4: Her 3 gruptaki bireylerin sinovyal doku damar endotelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyon yönünden karşılaştırılması

ŞEKİLLER

Şekil 1: Osteoartrit'te etyopatogenetik faktörler

Şekil 2: Isı şok protein ekspresyonu

Şekil 3: Stresle uyarılan ısı şok proteinlerinin şaperon fonksiyonu

Şekil 4: Stresle uyarılan HSP gen transkripsiyonunun sistematik mekanizması

Şekil 5 : HSP 70'in protein katlama mekanizması

Şekil 6 : HSP 70 kDa ailesinin moleküler yapısı

RESİMLER

Resim 1: Snovyal dokuda kronik inflamasyon ve epitelde hafif proliferasyon

Resim 2: Snovyal doku epitelinde (+++) deęerinde nükleer HSP 70 ekspresyonu

Resim 3: Snovyal doku epitelinde (-) nükleer HSP 70 ekspresyonu

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLolar	x
ŞEKİLLER.....	xi
RESİMLER.....	xii
İÇİNDEKİLER	xiii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1. OSTEOARTRİT	3
1.1. Tanımı:	3
1.2. Risk Faktörleri:	3
1.3. Osteoartritteki Değişiklikler:.....	4
1.4. Sınıflandırma:.....	9
1.5. Klinik Özellikler:	11
1.6. Diz Osteoartriti:.....	12
1.7. Menisküs Yırtıkları ve Bağ Yaralanmaları:	13
1.8. Diz Osteoartriti Tanı Kriterleri:	13
1.9. Görüntüleme Yöntemleri:	14
1.10. Laboratuvar Bulguları:	15
1.11. Tedavi:	15
2. ULTRASON	19
2.1. Ultrason Cihazı:	19
2.2. Dokularda Isı Dağılımı:	19
2.3. Ultrasonun Fizyolojik Etkileri:	20
2.4. Ultrasonun Klinik Uygulaması:	21
2.5. Ultrason Tedavisini Endikasyonları:.....	21
2.6. Ultrason Tedavisinin Kontrendikasyonları:	22
3. ISI ŞOK PROTEİNLERİ	23
3.1. Isı Şok Proteinlerinin Tanımı:	23
3.3. Isı Şok Proteinleri ve İmmünite:	25
3.4. Hücresel Stres Cevabı:	26
3.5. Şaperon Mekanizması:	30
3.6. HSP 70 Moleküler Yapısı:	31
3.7. Osteoartrit ve Isı Şok Proteini 70 (HSP 70):.....	32
GEREÇ VE YÖNTEM	34
4.1. HASTA GRUBU	34
4.2. SİNOVİYAL DOKULARIN İNCELENMESİ	34
4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	37
BULGULAR.....	38
TARTIŞMA	44
SONUÇLAR.....	48
KAYNAKLAR	49

GİRİŞ VE AMAC

Osteoartrit (OA), sıklıkla yaşlılarda görülen eklem kıkırdağında erozyon, eklem kenarlarında kemik hipertrofisi , subkondral skleroz ve sinovyal membran ve eklem kapsülünde birtakım biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerle karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır. Diz OA'ı, görülme sıklığı açısından omurga ve kalça OA'den sonra üçüncü sırada yer alır. Diz OA'ı oluşumundaki ana düşünce, dize binen stresin artması ve buna kas iskelet sisteminin cevap vermesidir. Menisküs yırtığı, menisektomi, ligamentöz bozukluğa bağlı instabilite, kırıklara sekonder eklem yüzü düzensizliği ve açısal deformiteler eklem yüzüne binen stresi artırarak OA'e neden olabilmektedir. OA'in patogeneğinde kondrosit ölümü kritik olaydır. Apoptozis, hücre ölüm mekanizmalarından biri olarak tanımlanmıştır. Günümüzdeki çalışmalar; OA'de dejenere kıkırdakta, dejenere olmayan kıkırdağa göre daha fazla apoptotik kondrosit ölümü olduğunu bildirmektedir.

Ritossa tarafından, 1962'de keşfedilen Isı Şok Proteinleri (HSP); ilk olarak yüksek ısıya maruz bırakılan *Drosophila* (sirke sineği) tükrük bezi hücrelerindeki kromozomal kümelerde tariflenmiştir. HSP'ler, filogenetik olarak bütün organizmalarda bulunan çok korunmuş ailelerden biridir . Hücre içinde günlük streslere cevap olarak düşük seviyelerde endoplazmik retikulum, mitokondri, sitozol ve nükleusta HSP bulunur. İskemi, hipoksi, kan basıncı yükselmesi, ağır metaller, serbest oksijen radikalleri, protein kinaz C, kalsiyum gibi ajanların artması, aminoasit ve glukoz analogları, inflamasyon, sodyum arsenit, hormonlar, antibiyotikler, sitokinler, infeksiyonlar gibi stresin yoğun olduğu durumlar HSP yükselmesini tetikler ve organizmayı koruyucu rolleri vardır. Osteoartritlik kondrositlerde HSP 70 ekspresyonu stres altında artar. Stres proteinleri OA'li hastaların kondrositlerinde fizyolojik veya yüksek vücut ısılarında normal kondrositlerden önemli ölçüde fazla miktarda meydana gelir. HSP 70, invitro ısı şoku yokluğunda, OA'in şiddeti ile pozitif koreledir. Cerrahi olarak tedavi edilen 14 bayan hastanın OA'li kıkırdak örnekleri incelenmiş; OA'in histolojik derecesi ile HSP 70 oranı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Eklemlerde HSP 70'in yalnız ısı stresi ile değil; sitokinlerle (IL1, IL2, TNF alfa, İnterferon gama) ve hidrostatik basınçla uyarıldığı da rapor edilmiştir. Bir adeno virüs vektör aracılığı ile HSP 70 geni alan insan kondrosit benzeri hücrelerde, ısı stresiyle ilişkili olarak hücrelerde

azalan metabolik aktivite ve süregenliğin iyileştiği gösterilmiştir. Günümüzdeki çalışmalar, stresin uyardığı HSP ekspresyonunun yalnız hücreleri korumadığı, çeşitli hücrelerde apopitozisi baskıladığını da kanıtlamıştır. Özellikle HSP 70 apopitozisin önemli bir düzenleyicisidir. Apopitotik kaspasların terapötik olarak düzenlenmesi, OA'in erken fazında büyük yararlar sağlar ve bu olay hayvanlarda ve insanlarda ilerleyici hiposelülarite ve kıkırdak matriks kaybını önleyici yeni terapiler için anahtar kabul edilebilir.

Genel anlamda kulağımızın üst işitme sınırı olan 20000 Hz frekansın üzerindeki ses dalgalarına ultrason (US) denir. Fakat tedavi amacıyla kullanılan US dalgaları 1.3 mHz dolayındadır. Ultrason cihazında bulunan güç çevirici elektrik enerjisini ses enerjisine dönüştürmektedir. Ultrason enerjisi bir dalga hareketiyle yayıldığı için bütün dalga hareketleri gibi farklı ortamların yüzeylerinde yansıma ve kırılmaya uğrarlar, sonuçta derin dokularda ısı enerjisi açığa çıkar. Kaslarda US'un yarılanma derinliği yaklaşık 3 cm'dir. Dolayısıyla US kemik, eklem, eklem kapsülü, sinovyal dokuya ulaşabilir ve tedavi edebilir. Diz eklemine yapılan uygulamada eklem içinde 2,7°C varan ısı yükselmesi sağlanmıştır. US'un biotkileri mikrosirkülasyonun artması gibi termal etkiler ve doku onarımı gibi nontermal etkilerini içerir. Huang ve ark., ratlarda papain injeksiyonu ile deneysel osteoartrit oluşturmuşlar, 18'lik 2 gruba ayırmışlardır. Bir gruba 4 hafta –haftada 3 kez frekansı 1 mHz, yoğunluğu 2.5 W/cm² pulse US uygulanmış; bir gruba uygulanmamıştır. OA oluşturulan kıkırdakta, kondrositlerde HSP 72 elektroforez ve immünohistokimyasal olarak bakılmış ve kıkırdak histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada US alan ratlarda, HSP 72 seviyesinin belirgin olarak arttığı ve tedaviyle pozitif kıkırdak onarımı ve şiddet indeksinin azaldığı gösterilmiştir. Tedavi edilmeyen ratlarda histopatolojik skor ve şiddet indeksi önemli derecede artmıştır. Kondrositlerin yaşayabilirliğinin artması OA'lı kıkırdak onarımında anahtar noktadır.

Biz de çalışmamızda, ultrasonun ısı etkisinden yararlanarak sinovyal dokuda HSP 70'le korelasyonunu ve dolayısıyla osteoartrit tedavisinde ultrasonun etkinliğini göstermeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

1. OSTEOARTRİT

1.1. Tanımı:

Osteoartrit (OA), sıklıkla yaşlılarda görülen eklem kıkırdağında erozyon, eklem kenarlarında kemik hipertrofisi, subkondral skleroz ve sinovyal membran ve eklem kapsülünde birtakım biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerle karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır (1).

1.2. Risk Faktörleri:

1.Yaş: Yaş, OA ile en güçlü uyumu bulunan tek risk faktörüdür (1,2). Otopsi çalışmaları 65 yaş üstündeki insanların hemen hemen tümünde kıkırdak değişiklikleri göstermektedir. 30 yaş altındaki insanlarda %1 oranındaki OA prevalansı, 40 yaş üstünde %10'a, 60 yaş üstünde ise %50'nin üstüne çıkmaktadır (3).

2. Cinsiyet ve Hormonal Faktörler: 50 yaşından önce erkeklerde OA insidansı ve prevalansı daha yüksek, 50 yaşından sonra kadınlarda OA prevalansı ve insidansı daha yüksektir (1,4,5). Kohort çalışmaları, kadınlarda östrojen alımının radyografik OA insidans ve prevalansını azalttığını rapor etmektedir (5).

3. Obezite: Obezite, OA için önemli bir risk faktörüdür (1, 3, 4,5,6,7). Yük taşıyan eklemlerdeki mekanik kuvvetlerdeki artış eklem dejenerasyonuna yol açan primer faktördür. Obezite sadece yük taşıyan eklemlerdeki yükü artırmaz; ayrıca postürü, yürüyüşü ve fiziksel aktivite düzeylerini de değiştirerek eklem biyomekaniğinde bozukluğa neden olur (1).

4. Genetik Faktörler:1960'lı yıllarda Kellgren, çoklu eklem tutulumu ile karakterize, Heberden nodülleri ve diz OA'ini içeren jeneralize nodal OA'in birinci derece akrabalarında kontrollere göre 2 kat sıklıkta görüldüğünü bildirmiştir (1).

5. Osteoporoz: OA ve osteoporoz arasında ters ilişki vardır. Kemik kitlesinin azalmasıyla, eklem çevresindeki kemiğin zayıfladığı ve böylece aşırı yükü absorbe ettiği ve eklem kıkırdağını aşırı strese karşı koruduğu düşünülmektedir (3).

6.Eklemdede Açısal Değişiklikler ve Travma: Eklemdede açısal değişiklikler veya travma OA'in hızla gelişmesine neden olabilir veya yıllar sonra semptomatik

diz OA sürecini başlatabilir (1). Eklem yüzeylelerinin uygunsuzluğu (kötü şekilde kaynamış intraartiküler kırıklar, kalçada gelişimsel displazi, patellanın tekrarlayan dislokasyonu) erken başlangıçlı OA'e neden olabilir (1,5). Krusiyat, kollateral ligament ve menisküs yırtıkları OA riskinin artmasına yol acar (6).

7. Mesleki Zorlanmalar: İş ve uğraşı aktiviteleri ile bazı eklemlerde OA arasındaki ilişki açıktır. Yol işçilerinde ve dizlerini bükerek çalışanlarda diz OA'i daha sık görülmektedir (3,8).

8. Spor Aktiviteleri: Pnömotik delgi operatörleri, beyzbol atıcılarının omuz ve dirseklerinde, bale dansçıların ayak bileklerinde, boksörlerin metakarpofalangeal eklemlerinde, basketbol oyuncularının dizlerinde OA gelişim riski fazladır (1,3,8).

9. Kas Güçsüzlüğü: Radyografik diz OA'i olan insanlarda, semptom olsun veya olmasın diz OA'i olmayanlara göre kuadriseps kas gücü zayıftır (4,5).

10. Hiper mobilite: Kronik travma oluşturma nedeniyle, OA gelişimini kolaylaştırabilir (8).

11. Proprioepsiyon bozukluğu: Gonartrozu olan bazı hastalarda proprioepsiyon duyusunda bozulma olduğu bildirilmiştir. Bu genel bir proprioepsiyon bozukluğu olmayıp, eklem içi veya çevresindeki mekanoreseptörlerdeki bir hasar dolayısıyladır. Charcot eklemi bunun klasik bir örneğidir (9).

12. Diğer Sistemik Faktörler: Serum CRP seviyesinin, radyografik diz OA'nin ilerleme riski ile direkt ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bu OA'de inflamasyonun rol oynayabildiğine ait kanıt sağlar. Diabet ile OA arasındaki kanıtlar değişkendir. Bu bulguların karşısındaki çalışmalar diabet ve DİSH (diffüz idiyomatik skeletal hiperostoz) arasındaki ilişki ile açıklanabilir. (4).

1.3. Osteoartritteki Değişiklikler:

OA'de meydana gelen değişikliklere girmeden önce normal eklem kırırdağının yapısı gözden geçirilmelidir. Kırırdağ; kan damarlarından yoksundur ve inervasyonu yoktur. Sinovyal sıvıdan difüzyon yoluyla beslenir. Hacminin %65-80'i sudur. Kırırdağta %80-90 oranında en fazla bulunan proteoglikan agrekan iken, en

fazla bulunan kollajen (%90-95) tip II kollajendir. Normal kıkırdakta tek tip hücre vardır: kondrosit. Kondrositler metabolik olarak çok aktiftir, normalde ergenlik çağından (adolesan) sonra bölünmez, yalnız matriks komponentlerinde minimal kayıp ile ilişkili küçük defektler hiyalin kartilaj ile rejenere olabilir. Çok büyük defektler onarım kapasitesini aşar ve sonuçta tahrip kalıcı hale gelir (8,10).

1. Morfolojik Değişiklikler: Sağlıklı hyalin kartilaj yüzeyi beyaz, parlak, esnek ve sağlam görünürken OA'de düzensiz, donuktur ve yumuşama görülür (10). Eklem kartilaj yüzeyi homojen doğasını kaybeder. Fragmentasyonlar, fibrilasyonlar, çukurcuklar ve ülserasyonlarla bozulur ve zarar görür. Bazen ilerleyen hastalıkla kıkırdak tamamen kaybolarak alttaki kemik görünür hale gelir. Yeni kemik yapımını temsilen marjinal osteofitler oluşur ve bunların üzerleri yeni oluşan, düzensiz yapıdaki hiyalin kıkırdak ve fibrokartilaj ile kaplıdır (1,11).

2. Biyokimyasal Değişiklikler: Erken OA'de kıkırdağın su içeriği belirgin olarak artar, dokunun şişmesine ve biyomekanik özelliklerinin değişmesine neden olur. Su miktarındaki artış, kollajen fibrillerinin dizilimlerinde ve kollajen ağda gevşemeye yol açar. Geç dönemlerde ekstraselüler matrikste dayanıklılığı daha az olan Tip I, X, III, VI kollajen konsantrasyonu artar. Proteoglikan konsantrasyonu %50 ve daha aşağı düzeylere iner. Glikozaminoglikan zinciri daha kısaldır. Keratan sülfat konsantrasyonu azalır, kondroitin-4-sülfatın, kondroitin-6-sülfata oranı artar, bu durum kondrositler tarafından daha immatür bir kıkırdağı yansıtan proteoglikan profilinin sonucudur (1,8,11).

3. Metabolik Değişiklikler: OA'in şiddeti arttıkça, kondrositler tarafından sentezlenen matriksi yıkan enzimlerin sekresyonu belirgin ölçüde artar. OA'de erken kıkırdak dejenerasyonu muhtemelen hem proteoglikan (aggrekanaz), hem de kollajen (kollajenaz) yıkımına neden olan matriks metalloproteinaz (MMP) ailesinin aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Kollajenazlar, tipik olarak kollajenin üçlü sarmal yapısını bozarak diğer proteazlar tarafından yıkıma hazır hale getirir. Aggrekanazlar, diğer MMP'lerle beraber aggrekanları yıkıma uğratar (1). MMP'lerin OA'te artmış olduğu kanıtlanmıştır. MMP'ler; kollajenaz, stromelizin ve jelatinaz olarak 3 temel gruba ayrılır. MMP'lerin diğer bir grubu Membran tipi MMP (MT-MMP)'dir (12). Eklem kıkırdağında birçok MMP sentezi rapor edilmiştir: MMP 1, 2, 3, 7, 8, 9, 13,

14 (13-14). Kollajen MMP 1, 8 ve 13 tarafından parçalanmakta ve ortaya çıkan fragmanlar MMP 2, 9, 3 ve Katepsin B gibi enzimler tarafından parçalanmaktadır (1). Kollajen yıkımından sorumlu üç majör MMP'den MMP 13, OA'de en önemli olanıdır, çünkü tercihen Tip II kollajeni yıkar. OA'te, MMP 13 ekspresyonunun büyük ölçüde arttığı gösterilmiştir (1, 14). İki aggreganaz; ADAMTS (Trombospondin-1 benzeri zincir içeren, disintegrin ve metalloproteinaz) 4 ve ADAMTS 5 osteoartritteki kıkırdak yıkımındaki temel enzimdir (1).

4. İnflamatuar Sitokinler ve Büyüme Faktörleri: Sitokinler ve büyüme faktörleri OA'de kondrositler ve sinovyal hücrelerin her ikisinde de salınır. IL1 ve TNF alfa çok önemli ve OA'de iyi çalışılmış sitokinlerdir. IL1 ve TNF alfa; kondrositlerden proteinazların tümünün veya çoğunun üretimini uyarır, tip II kollajen ve proteoglikan sentezini inhibe eder, kondrositlerden ve sinovyal hücrelerden IL 8, IL 6, nitrik oksit, prostoglandin E₂ gibi başka inflammatuar mediyatörlerin üretimini uyarır (1,15). Sitokinler kıkırdak metabolizmasında üç gruba ayrılır:

Katabolik sitokinler: IL alfa / beta, TNF alfa, IL 17 ve IL 18

İnhibitör sitokinler: IL 4, IL 10, IL11, IL 13, IL 1 reseptör antagonisti ve İnterferon gama

Anabolik sitokinler: İnsülin-like growth faktör 1, transforming growth faktör(TGF) beta 1, TGF beta 2, TGF beta 3, Fibroblast growth faktör(FGF) 2, FGF 4, FGF 8, Kemik morfogenetik protein (BMP) 2, BMP 4, BMP 6, BMP 7, BMP 9, BMP 13'dür (15).

IL 1, TNF alfa, IL 17 ve IL 18, matriks metalloproteinaz sentezini artırır, MMP enzim inhibitörlerini azaltır ve ekstraselüler matriks sentezini azaltır. Anabolik sitokinler, ekstraselüler matriks sentezini stimüle eder. Aktif ve inaktif BMP'ler eklem kıkırdağındaki kondrositlerde üretilir ve ekstraselüler matriks sentezini stimüle eder, kondrogenesis ve osteogenesisi uyarır (14). OA'de kıkırdak dokusunda, anabolik faktörlerle katabolik faktörler arasında dengesizlik vardır. OA'de kıkırdak yıkımının kesin mekanizması hala anlaşılammıştır, ama genetik, çevresel, metabolik ve biyokimyasal faktörlerin karşılıklı etkileşerek bir kompleks oluşturdukları önerilmektedir (10).

5. Nitrik Oksit ve Apoptozis: OA, eklem kıkırdağının yıkımı ile karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır. OA'ın final fazı: matriks yıkımı, hücre ölümü ve kıkırdak bütünlüğünün total kaybıyla sonuçlanan onarıcı sürecin yetmezliğini yansıtır. Kondrositler, matür kıkırdaktaki mevcut hücre tipidir ve tahrip olmuş dokunun onarımından sorumludur. Apoptozis, hücre ölüm mekanizmalarından biri olarak tanımlanmıştır (16). Günümüzdeki çalışmalar; OA'de dejenere kıkırdakta, dejenere olmayan kıkırdağa göre daha fazla apoptotik kondrosit ölümü olduğunu bildirmektedir (17). Kondrositler ekstraselüler matriksin üretimi ve sürdürülmesinden sorumludur. OA'ın patogenezinde, kondrosit hücre ölümü kritik olaydır. OA'li eklemden, nitrik oksit (NO), inflamasyonda önemli bir mediyatör olarak olaya karışmaktadır. TNF alfa ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerle veya mekanik stres uyarılarının artmasıyla, kondrositlerde NO sentetazın indüklenbilir formunun (iNOS) aktivasyonu ile NO üretilir (1, 18).

NO kondrositler üzerinde kıkırdak yıkımını artırıcı yönde pek çok etki gösterir. Bu etkiler arasında:

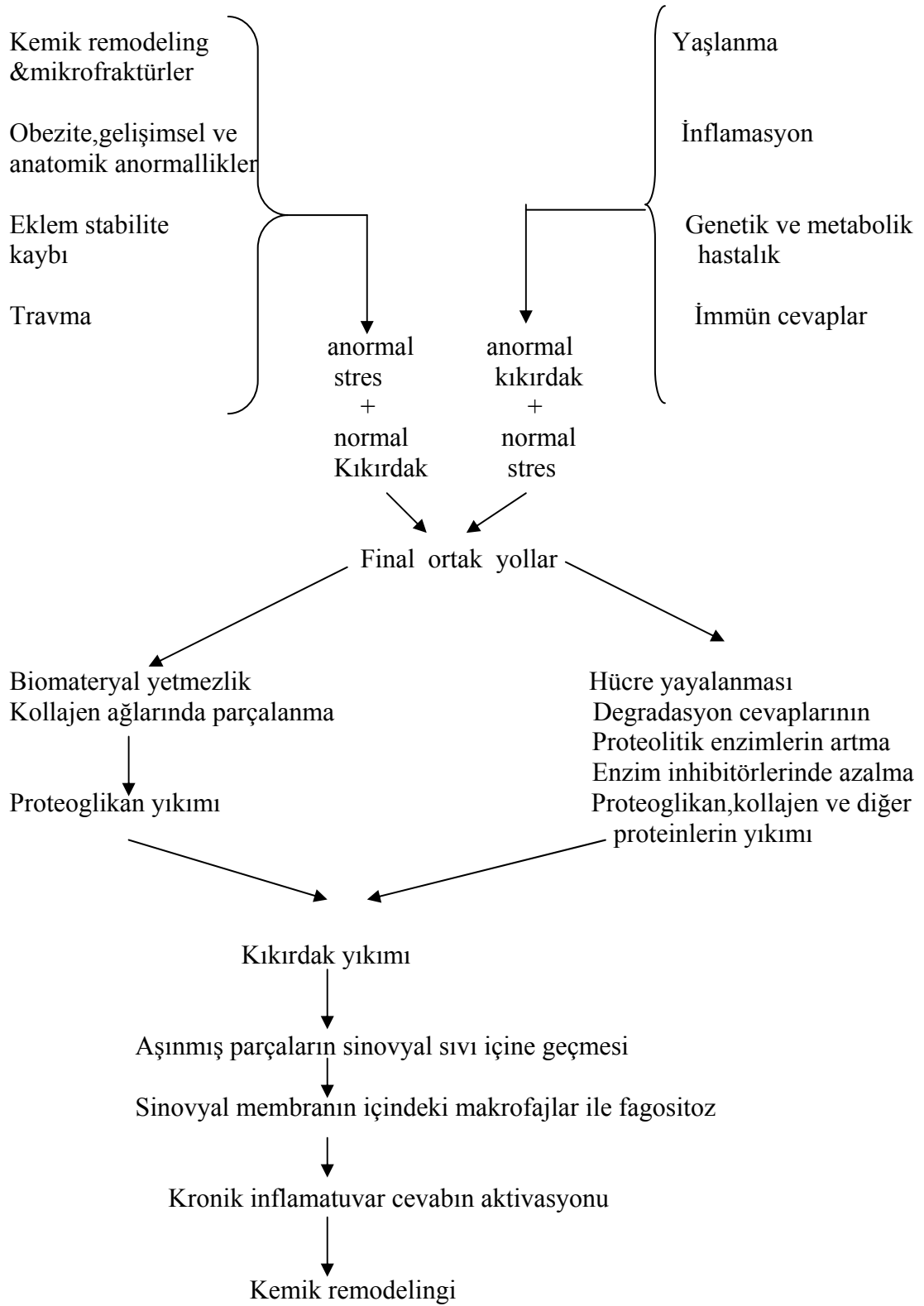
1. Kollajen ve proteoglikan sentezinin inhibisyonu,
2. MMP'lerin aktivasyonu,
3. Diğer oksidanlar (örneğin, hidrojen peroksit) tarafından hasarlanmaya karşı hassasiyet,
4. Apoptozis (1,19).

Blanco ve ark., ilk olarak, NO'nun insan kondrositlerinde apoptozisin primer uyarıcısı olduğunu kanıtladılar ve OA'li hastalardan elde edilen kıkırdak ve izole kondrositlerde apoptozisi rapor ettiler (16,20). Hashimoto ve ark., tavşan OA modellerinde apoptotik kondrosit prevalansının, dokulardaki nitrit seviyesi ve OA'ın histolojik derecesi ile önemli derecede ilişkili olduğunu rapor ettiler. Ayrıca bu çalışmada OA oluşturulan tavşan dizlerindeki sinoviyumla, OA olmayan dizdeki sinoviyum karşılaştırıldığında, spontan NO salınımı önemli derecede yüksek izlenmiştir ve zamanla sinovyal hücrelerde apoptozis görülmüştür (21). OA'li hastalarda serum ve sinovyal sıvılarda NO seviyesi, normal örneklerden daha yüksek bulunmuştur (22).

Kaspas ailesinin enzimleri, hücre apoptozisinde önemli rol oynarlar. Kaspas 9, mitokondriyal membran içinden stokrom c salınımına cevap olarak aktive olur. Kaspas 3 efektör kaspasdır, kaspas 8 ve 9 gibi başlatıcı kaspaslar ile aktive olur ve vital intraselüler proteinleri böler. Matsuo ve ark., ilk olarak OA'li hastaların kıkırdaklarında, immünohistokimyasal olarak kaspas 3'ün aktif formunu yüzeysel ve derin zondaki kondrositlerde kanıtladılar. OA'in derecesi ile apoptotik hücre oranı ve kaspas 3 arasındaki ilişki, kaspas 3'ün OA'li kıkırdakta kondrosit apoptozisinde rol oynadığı hipotezini destekler. Aynı çalışmada kaspas 3 ve dokularda nitrotirozin arasındaki ilişki nedeniyle, NO üretiminin artmasının kaspas-aracılı apoptozis kaskadını aktive edebileceği güçlü şekilde önerilmiştir (18). Pelletier ve ark., deneysel OA oluşturulan köpek modellerinde, selektif INOS inhibitörü olan N-iminoethyl-L-Lysine (L-NIL) tedavisi ile, femoral kondil ve tibial platonun her ikisinde, doza bağımlı olarak, makroskopik ve histolojik kıkırdak lezyonlarının ilerlemesini azalttığını ve L-NIL'in kondrositlerde apoptozis ve kaspas 3 seviyesini azalttığını rapor ettiler. Ama L-NIL deneysel OA modellerinde, kondrosit apoptozisi veya OA'nın ilerlemesini her ikisini tamamen inhibe etmeyi başaramadı (23,24). Lee ve ark., kaspas 3/7 selektif inhibitörlerinin invitro kondrosit apoptozisini başarılı şekilde inhibe ettiğini kanıtladılar (25).

Kondrosit apoptozisinin önemi:

1. Kondrosit apoptozisi insan ve deneysel olarak uyarılan OA'te meydana gelir.
2. Apoptozis kıkırdak yıkımının şiddeti ile pozitif ilişkilidir.
3. Apoptotik cisimler pirofosfat ve kalsiyum presipitat ve pirofosfat üretir.
4. Ekstraselüler matriks yıkımı ve kondrosit apoptozisi, osteoartrit patogenezi ile ilişkili olaylardır (19).



Şekil 1. Osteoartrit'te etyopatogenetik faktörler (26. kaynaktan uyarlanmıştır)

1.4. Sınıflandırma

OA'in sınıflandırması etyolojiye, tutulan eklem veya spesifik bir özelliğin varlığına göre yapılabilir (9,11).

A. Eklem Tutulumuna Göre Sınıflandırma:

1. Monoartiküler, oligoartiküler veya poliartiküler (generalize)
2. Belli bir eklem ve eklemde belli bir bölgesinin tutulması
 - a) Kalça (üst uç, medial uç veya konsantrik)
 - b) Diz (medial, lateral, patellofemoral kompartmanlar)
 - c) El (interfalangial eklemler, ve/veya başparmak kökü)
 - d) Omurga (apofizyal eklemler veya intervertebral disk hastalığı)
 - e) Diğerleri

B. Etiyolojiye Göre Sınıflama:

1. Primer (idiopatik)
2. Sekonder
 - a) Metabolik sebepler (okronozis, akromegali, hemakromatozis, kalsiyum kristal birikimi)
 - b) Anatomik sebepler (femoral epifiz kayması, epifizyal displaziler, Blount hastalığı, Legg-Calve-Perthes hastalığı, kalçanın konjenital dislokasyonu, bacak boyu eşitsizliği, hiper mobilite sendromları)
 - c) Travmatik sebepler (büyük eklem travması, eklemde kırık yada osteonekroz varlığı, mesleki kronik zedelenmeler)
 - d) İnflamatuar sebepler (inflamatuar artritler ve septik artritler)
3. Spesifik Özelliğin Varlığına Göre Sınıflandırma
 - a) İnflamatuar Osteoartrit
 - b) Eroziv Osteoartrit

- c) Atrofik veya destrüktif Osteoartrit
- d) Kondrokalsinozis ile birlikte olan Osteoartrit
- e) Diğerleri.

1.5. Klinik Özellikler:

Ağrı: OA'in en önemli ve en sık görülen semptomu olsa da, ciddi radyolojik değişikliklere sahip hastaların %40'ında semptom yoktur. OA'de ağrının gelişimine neyin sebep olduğu henüz netlik kazanmamıştır. Çünkü OA esas olarak eklem kıkırdağını etkileyen bir hastalık olmasına karşın, kıkırdak ağrı duyusunu iletecek sinir ağından yoksundur; dolayısı ile OA'in major semptomu olan ağrıyı açıklamak için tek bir mekanizmadan bahsedilememektedir. OA'de ağrı nedenleri:

- a) Eklem çevresi kaslarda güçsüzlük ve spazm
- b) Subkondral kemikte vasküler konjesyona bağlı olarak gelişen intraossöz basınç artışı
- c) Hafif ve orta derecede sinovit
- d) Osteofitlerin periostu irrite etmesi, trabeküler mikrofraktürler
- e) Eklem kapsülü ve ligamanların gerilmesi
- f) Bursit, tenosinovit
- g) Sekonder fibromiyalji
- h) Santral nörojenik değişikliklerdir (3,8,11,27,28).

Eklem Tutukluğu: Sık görülen bir semptom olup, tutulan eklem lokalizedir. Daha çok sabahları ve belli bir süre hareketsizliği takiben ortaya çıkar. Süresi Romatoid Artrit ve diğer inflamatuvar hastalıkların tersine, 30 dakikanın altındadır. Zaman içinde eklem yapısının bozulması ve kapsüler fibroze bağlı olarak sertlik kalıcı hale gelir (3,8,11).

Kemikte Şişlik, Deformite ve Krepitasyon: Eklem kenarlarında sert şişlikler genellikle palpe edilebilir ve duyarlı olabilir. İleri OA'de şişlik ve deformiteye bağlı olarak eklem hareket genişliğinde azalma görülebilir. Dizlerde O-bacak veya X-

bacak deformiteleri fark edilebilir. OA'li hastalar sıklıkla eklem hareketi sırasında krepitasyondan yakınrlar. Krepitasyon OA'in önemli bir bulgusudur. İleri OA'de krepitasyon palpasyonla hissedilebileceği gibi, rahatça da duyulabilir. Neden olarak eklem yüzeyindeki düzensizlikler, marjinal çıkıntılar ve sinovyal sıvıdaki hava kabarcıkları gösterilmektedir (3,8,11).

Fonksiyon Kaybı: Fonksiyon kaybı tutulan bölgeye özgüdür. Fonksiyon kaybının ana nedeni ağrıdır. Diğer faktörler, kas gücünde ve eklem hareket genişliğinde azalmadır (3,8,11).

Yumuşak Doku Şişliği ve İnflamasyon Bulguları: Eklem etrafındaki sert şişlikler kemik, yumuşak doku ve kırıldak kökenlidir. Aynı zamanda efüzyon ve sinovite bağlı belirgin yumuşak doku şişliği olabilir (3,8,11).

1.6. Diz Osteoartriti:

Diz OA'i, görülmeği açısından omurga ve kalça OA'den sonra üçüncü sırada yer alır (11). Diz OA'i oluşumundaki ana düşünce, dize binen stresin artması ve buna kas iskelet sisteminin cevap vermesidir. Menisküs yırtığı, menisektomi, ligamentöz bozukluğa bağlı instabilite, kırıklara sekonder eklem yüzü düzensizliği ve açılmal deformiteler eklem yüzüne binen stresi artırarak OA nedeni olabilmektedir (4,6,27). Hastalar klinik olarak iki kategoride incelenebilir: Birinci kategoride; hasta sıklıkla genç ve erkektir. Önceden geçirilmiş bir zedelenme veya menisektomiye bağlı izole OA saptanır. İkinci kategoride ise; hasta orta yaş ve üstünde olup sıklıkla kadındır, dize ilaveten diğer eklemlerde tutulum vardır. Hastalar ağrının hareketle artıp, istirahatle azaldığını belirtirler. Özellikle yürüme ve merdiven inip-çıkma esnasında ağrı artar. Yürüme, kalça ve diz OA'de antalgik şekilde, patellofemoral ağrı olduğunda ise hastanın dizini koruyarak yürüme şeklinde olabilir. Uzun süreli inaktiviteden sonra sertlik görülür. Krepitasyon sıktır. Eklemde çeşitli yerlerinde hassasiyet saptanır. Pasif veya aktif hareket ağrıya neden olur. Muayenede osteofitler, düzensiz ve sert şişlikler şeklinde palpe edilirler. Sinovit ve efüzyon diğer eklemlere kıyasla, diz eklemde daha sık görülür. Aktif veya pasif eklem hareketlerinde kısıtlanma meydana gelebilir. Hastalığın ileri dönemlerinde kuadriseps kasında atrofi görülür. Medial ve lateral kompartmanların eşit tutulmaması, eklem instabilitesi, subluksasyona neden olur. Kollateral ligamentlerin laksitesine

bağlı olarak, eklem biyomekaniği dahada bozular. Medial kompartmanın tutulması, diz OA'de sık görülen bir bulgu olan varus deformitesine neden olur. Lateral kompartmanın tutulması nadir olup, valgus deformitesine neden olabilir (11,27,29).

1.7. Menisküs Yırtıkları ve Bağ Yaralanmaları:

Dizdeki sıkıştırıcı, rotasyonel ve makaslama kuvvetleri ile menisküs yırtılır. İlk zorlanmada sağlam bir menisküsün tam yırtılması çok seyrek. Çoğunlukla tekrarlayıcı travmalarla yırtık ilerler. Ligamentöz laksite, kas zayıflığı, kötü postürde çalışma alışkanlığı, şişmanlık, ileri derecede genu varum ve valgum, spor travmaları gibi faktörler menisküs yırtıkları ve dejeneratif değişikliklere katkıda bulunurlar. Lateral menisküs daha mobil olduğu için, medial menisküs lezyonları daha sıktır. Çoğu kez ilk yırtık medial menisküsün arka boynuzunda olur. Yırtılan parçanın kondiller arasında birikmesi kilitlemeye neden olduğu halde, ortaya doğru kayarak inter kondiler fossada toplanırsa kilitleme olmaz. Semptomlar yırtılan menisküsten değil, yapışma yerlerini gerilmesi ve yırtılmasından, sinovyum, kapsül ve bağların lezyonlarından kaynaklanır (27).

Bağ yaralanmalarında genellikle travma öyküsü vardır. Hareket ağrıya bağlı olarak kısıtlanmıştır. Çapraz bağ yırtıklarında eklemde ilk 24 saatte büyük miktarda efüzyon birikir. Ön çapraz bağ yırtıkları hemartrozun en önemli sebeplerindedir. Kollateral bağ yırtıklarında kan yumuşak dokuya yayılacağından hemartroz görülmeyebilir. Ön ve arka çekmece testleri, varus ve valgus pozisyonunda stres uygulanması ile bağ stabilitesi değerlendirilir (30).

1.8. Diz Osreoartriti Tanı Kriterleri:

Amerikan Romatizma Cemiyeti (ACR) tarafından geliştirilen diz OA tanı kriterleri klinik, labaratuvar ve radyolojik verilerin bir kombinasyonu şeklindedir ve aşağıda görüldüğü gibidir (11,29):

Klinik Tanı Kriterleri:

1. Önceki ayın çoğu gününde diz ağrısı
2. Aktif eklem hareketinde krepitasyon
3. Sabah tutukluğunun 30 dakika ve altında olması

4. 38 yaş ve üstünde olmak
5. Muayenede eklemden büyüme gözlenmesi

Diz OA tanısı için ; 1, 2, 3, 4 veya

1, 2, 5 veya

1, 4, 5 numaralı kriterlerin sağlanması gerekir.

Klinik / Labaratuar / Radyolojik Tanı Kriterleri:

1. Önceki ayın çoğu gününde diz ağrısı
2. Eklem kenarlarında radyografik osteofitler
3. OA için tipik sinovyal sıvı bulguları
4. 40 yaş ve üstü olmak
5. Sabah tutukluğunun 30 dakika ve altında olması
6. Aktif eklem hareketinde krepitasyon

Diz OA tanısı için ; 1, 2 veya

1, 3, 5, 6 veya

1,4, 5, 6 numaralı kriterlerin sağlanması gerekir.

1.9. Görüntüleme Yöntemleri:

Radyografi: Her ne kadar radyolojik bulgular nonspesifik olabilirse de genellikle OA tanısının konmasında değerlidir. OA'da sık görülen bulgular; eklem aralığında asimetrik daralma, subkondral kemikte skleroz, subkondral kistler ve yeni kemik oluşumu veya osteofitlerdir. Subluksasyon, deformite ve eklem faresi, hastalığın ileri safhalarında gözlenebilir. Diz OA'lı hastalarda radyografik ilerlemeyi değerlendirmek için, son 40 yıldır standart olarak Kellgren-Lawrence 'ın 1957'de tanımladığı karakteristik radyolojik evreleme skalası kullanılmaktadır (11, 29).

Kellgren ve Lawrence'in radyolojik evreleme skalası:

Evre 0: OA bulgusu yok

Evre 1: Şüpheli osteofit ile uyumlu görünüm

Evre 2: Belirgin osteofit, korunmuş eklem mesafesi

Evre 3: Eklem mesafesinde orta derecede daralma

Evre 4: Eklem mesafesinde ileri derecede daralma ve subkondral kemikte skleroz artışı vardır.

Sintigrafi: Teknesyum-99m'le yapılan kemik sintigrafisi, tipik radyolojik değişiklikler oluşmadan yıllar önce, kemik fazındaki artmış aktiviteyi gösterebilir. Kıkırdak kaybının erken döneminde bile, var olan vasküler reaksiyonu ve osteoblastik aktiviteyi yansıtabilir (3,11).

Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): BT ve MRG, eklemlerdeki erken osteoartritik değişiklikleri saptayabilmelerine rağmen, rutin değerlendirmede nadiren kullanılırlar (3,11).

Artroskopi: Artroskopi, kıkırdak ve fibrokıkırdak- menisküs, sinovyum ve bağlar dahil olmak üzere diğer eklem içi yapıları direkt olarak ve en iyi şekilde görüntüleyebilir. Yüzeysel eklem bozukluklarını ölçmek için en hassas tekniktir (31).

1.10. Laboratuvar Bulguları:

Komplike olmayan OA'li hastaların çoğunda rutin kan tahlilleri normaldir. Eritrosit sedimentasyon hızı, C reaktif protein (CRP), rutin kan sayımları ve biyokimyasal analizler normaldir. Romatoid faktör (RF) ve anti-nükleer-antikör (ANA) negatiftir, fakat ileri yaş grubundaki hastalarda RF ve ANA'nın düşük titrelerde pozitifliğinin de söz konusu olabileceği göz önüne alınmalıdır. Sinovyal sıvı analizinde, ılımlı bir yangıyı yansıtan özellikler görülür. Sinovyal sıvı berrak olup, saman rengindedir; akışkanlık hafif azalmış; protein hafif artmış olabilir; hücre sayısı genelde 200-2000/mm³ arasındadır (3,11,29).

1.11. Tedavi:

OA tedavisindeki amaçlar temel olarak ağrıyı ve özür lülüğü azaltmaya yöneliktir. OA'in tedavisi karmaşık olup, farmakolojik, farmakolojik olmayan ve eklem içi tedavileri içermektedir.

A. Farmakolojik Olmayan Tedaviler:

1. Hasta Eğitimi:

Eklemin korunma prensipleri hakkında hastanın eğitilmesi, sadece ağrıyı azaltmakla kalmaz, ileri de oluşabilecek hasarları da önler. Tutulan eklem aşırı yük bindiren aktiviteler ve bunlardan kaçınma yolları hakkında hastaya bilgi verilebilir (11).

2. Diyet:

Obezite, diz OA'ı gelişimi için bir risk faktörüdür ve hastalığın radyolojik ilerleyişi ve özür lülüğü ile ilişkilidir. Diz OA'ı olan kilolu hastalar ile yapılan küçük çalışmalarda, çok az kilo kaybının (<5 kg) bile önemli derecede kısa ve uzun dönem OA semptomlarını azalttığını göstermiştir (5,29).

3. Egzersiz:

OA'lı hastalarda, eklem hareket açıklığında (EHA) azalmanın yanı sıra, kasların güç ve endüransında azalma, postür ve yürümede bozukluk, fonksiyonel kısıtlılık ve genel kondüsyonda azalma saptanır. Düzenli uygulanan uygun bir egzersiz programı ile sayılan bu olumsuzluklar giderilirken aynı zamanda OA'de sıkça rastlanılan ağrı, yorgunluk ve depresyon düzeyi de asgari düzeye indirilebilir. OA'nın çeşitli aşamalarında, hasta değerlendirilerek uygun egzersiz yöntemine karar verilmelidir. Bu amaçla; EHA'yı artırıcı egzersizler, izometrik, izotonik ve aerobik egzersizler uygulanabilir.

OA'lı hastalarda önerilen egzersizler:

1. Yetersizliği azaltarak, fonksiyonel düzeyi artırır.
2. Eklemi daha fazla hasardan korur.
3. Disabiliteyi önler ve yaşam kalitesini artırır (11,29,32).

4. Fizik Tedavi Modaliteleri:

Sıcak ve Soğuk Uygulamalar: OA'nın kardinal bulgusu ağrı olup, neden multifaktöriyeldir. Bu tip ajanlar ağrının azaltılması, kas spazmının azaltılması, şişliğin azaltılması, ve fleksibitenin arttırılması amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.

Yüzeysel ısıtma araçları; sıcak paketler, parafin banyoları, infrared ışınlar veya hidroterapi tarzında uygulanır.

Derin ısıtma ise; kısa dalga diatermi veya ultrason aracılığı ile sağlanabilir. Isı, elektrik veya ses enerjisinin ısı enerjisine dönüştürülmesiyle sağlanır.

Soğuk uygulama ise, inflamasyon olan eklemlere önerilir. Buz paketleri, buz masajı, soğuk banyolar ve uçucu gazlar ile uygulanabilir.

Analjezik Akımlar: OA'de ağrı ile mücadelede, fizik tedavi kapsamı içerisinde yer alan alçak ve orta frekanslı akımlardan geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Bu amaçla galvanik akımlar, eksponansiyel akım, sinuzoidal akım ve TENS ile orta frekanslı akımlar sıkça kullanılır.

Traksiyon: Sinir kökü sıkışmaları, dejeneratif disk ve artiküler kartilaj üzerindeki basının kaldırılması veya azaltılması amacıyla kullanılmaktadır.

Masaj: Masajın yumuşak dokularda relaksasyon, kas spazmını azaltma, doku yapışıklıklarını giderme, kasın fleksibilitesinde artış, venöz-lenfatik drenajı artırma ve sonuçta ödemi azaltma ile, lokal kan dolaşımını artırma gibi etkileri vardır. Bu etkileri nedeniyle OA'de kullanımının yararları bilinmektedir.

Hidroterapi ve Kaplıca: Su içinde uygulanan egzersizle eklem üzerine yüklenme asgariye indirilir. Terapötik seviyede suyun sıcaklığı ise kas spazmını çözer, lokal kan dolaşımını hızlandırır ve ağrıyı azaltır. Bu durum aynı zamanda egzersizlerin daha kolay yapılmasına katkıda bulunur (32).

5. Mekanik Destekler:

Çeşitli ortezler, yürümeye yardımcı cihazlar ve tabanlıklar OA'lı hastalarda büyük fayda sağlayabilir. Baston, yürüteç gibi basit yürüme araçları aşırı eklem yükünü azaltarak ağrıyı azaltırlar (11,29,32).

B. Farmakolojik Tedaviler:

1. Sistemik ilaçlar:

Parasetamol: İlk tercih edilen oral analjezik olması ve faydalı olduğunda uzun dönem alınabilmesi yaygın olarak kabul edilen bir görüştür. Hafif ve orta derecede OA'da şikayetler sıklıkla analjezik tedaviye yanıt verir (11,29,32).

Steroid Olmayan Antienflamatuvar İlaçlar (SOAİİ) ve Siklooksijenaz-2-spesifik (COX-2) İnhibitörler: Eğer belirli bir süre içerisinde şikayetler azalmaz ise SOAİİ'a geçilebilir. OA'da SOAİİ kullanılmasının nedeni hastalığın enflamatuvar komponentinin de semptomlara katkıda bulunabilmesindedir (29).

Opioidler ve Antidepresanlar: Santral etkili bir opioid analjezik olan Tramadol, serotonin ve noradrenalin geri alımını inhibe eder. Dayanılmaz ağrısı olan ve artroplasti için uygun olmayan hastalarda önerilebilir, ancak uzun süreli kullanımında tolerans veya bağımlılık gelişebilir. Antidepresan ilaçlar, muhtemel analjezik, uyku düzenleyici ve sedatif etkileri nedeniyle diğer tedavilere ilave olarak kullanılmaktadır (29).

2. Eklem İçi Enjeksiyonlar:

Viskosuplementasyon: Sinovyal sıvının bir bileşeni olan hyaluronan, viskoelastiden sorumludur. Amerika Romatizma Cemiyeti (ACR) ise, eklem içi hyaluran tedavisini farmakolojik olmayan tedavilere ve basit analjeziklere cevap vermeyen hastalarda önermektedir (11,29).

Steroid Enjeksiyonu: Klinik çalışmalar eklem içi steroid enjeksiyonlarının bazı hastalarda kısa süreli, orta derecede bir ağrı azalması sağladığını göstermektedirler (11,29).

3. Topikal Analjezikler:

Topikal tedavi, basit analjeziklere adjuvan olarak, tek semptomatik eklemden monoterapi olarak veya sistematik tedaviyi tolere edemeyen hastalara verilebilir (11,29).

C. Cerrahi Tedavi:

OA'de elektif ortopedik cerrahi için primer neden şiddetli, dayanılmaz ağrıdır. İkincil bir neden de, bozuk olan fonksiyonun düzeltilmesidir. Uygulanan cerrahi yöntemler; eklem farelerinin çıkartılması, eklemlerin stabilizasyonu, eklemdaki kuvvetlerin yeniden dağıtılması (örn.; osteotomi), nöral sıkışmanın rahatlatılması ve eklem artroplastisidir. Artroskopik girişim genellikle ayırıcı tanıya yönelik yapılır. Artroskopik cerrahi ise, hasar görmüş menisküslerin tamirinde veya parsiyel olarak çıkarılmasında faydalıdır (11).

2. ULTRASON

Ses, maddesel ortamdan oluşan periyodik dalgalanmalardır. Bu nedenle ses enerjisinin iletilebilmesi için madde ortamına gereksinim vardır. Genel anlamda kulağımızın üst işitme sınırı olan 20.000 Hz frekansın üzerindeki ses dalgalarına **ultrason (US)** denir. Fakat tedavi amacıyla kullanılan US dalgaları 1,3 mHz dolayındadır.

2.1. Ultrason Cihazı:

Bir US cihazının düzeneğinde iki temel kısım bulunmaktadır. Birincisi; yüksek frekanslı akım üreticidir ki, bu alternatif şehir akımını istenilen frekansta alternatif akıma yükseltir. İkincisi; üreteçten elde edilen akımı, mekanik enerjiye yani maddesel titreşime dönüştüren güç çevirici (transduser)dir. Güç çevirici, silindirik kesilmiş kuvartz, baryum titonat gibi kristal yapıda olup, akımın yönüne göre şekli periyodik olarak değişir, deforme olur. Bu olay, kristalde ve kristalin bulunduğu ortamda titreşime neden olur. Kristalin titreşim frekansı üreteçten gelen akımın frekansına eşit olmalıdır. Bazı kristallerin ses enerjisini elektrik enerjisine çevirme özelliği vardır. Buna piezoelektrik özellik denir. US cihazlarının işleyiş mekanizmalarının esası, piezoelektrik olaya dayanır; elektrik enerjisi ses enerjisine dönüşmektedir. US yoğunluğu Watt/cm^2 (W/cm^2) cinsinden ifade edilir. Bu ortalama yoğunluktur. Başlık yüzeyinin her cm^2 'sine düşen enerji yoğunluğudur

2.2. Dokularda Isı Dağılımı:

US dalgaları yayıldıkları ortamda emilir ve gittikçe yoğunluğu azalır. Girciliği, yayıldığı ortamda yoğunluğunun yarıya düştüğü derinliktir. US enerjisi, bir dalga hareketiyle yayıldığı için bütün dalga hareketleri gibi, farklı ortamların yüzeylerinde yansıma ve kırılmaya uğrarlar. Sonik geçirgenliği fazla olan ortamdaki az olan ortama, yani daha yoğun ortama geçerken yansır. İnsan vücudunda bu durum en çok kas-kemik ara yüzeyinde görülür. Deri altı yağ dokusunda ve kaslarda daha az enerji ısıya dönüşür. Bu nedenle US enerjisi bu dokularda nispeten az kayba uğrayarak derinlere ulaşabilir. Kaslarda US'nun yarılanma derinliği yaklaşık 3 cm'dir. Bu bilgilerden, US ile kemik ve eklemlere, eklem kapsülü ve sinovyal dokuya ulaşabileceği ve bu dokuların tedavi edilebileceği anlaşılmaktadır. Diz

eklemine yapılan uygulamada eklem içinde 2,7°C varan ısı yükselmesi sağlanmıştır (33).

2.3. Ultrasonun Fizyolojik Etkileri:

Isıya bağlı etkiler: Isı lokomotor sistem hastalıklarında ağrıyı dindirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Isı uyaranları ile Melzack ve Wall'ın kapı-kontrol teorisine göre ağrı duyumu kontrol edilebilir. US homojen sayılabilecek dokulardan geçerken absorbe edilir ve ısı enerjisine dönüşür. Isınmanın derecesi, ortamın akustik empedansına, yani US dalgalarının ortamdaki geçebilme yeteneğine bağlı olarak değişir. Her dokunun akustik empedansı farklıdır. Akustik empedans açısından maddeler şöyle sıralanabilir: hava<yağ<kas<kemik<su. Akustik özellikleri farklı komşu dokuların birleşme yerinde yansıma ile büyük bir ısı artışı olur ve sıkışma ve genleşme hareketinden dolayı mikromasaj etkisi oluşur. Isı endorfinleri artırarak ağrı üzerine etkili olabilir (34).

Tedavi dozlarında kemikler üzerine yararlı veya zararlı bir etkileri görülmemiştir. Yüksek dozlarda mikrofraktürlere yol açabilir (33,35).

Isıya Bağlı Olmayan Etkiler: US uygulamasında biyolojik membranların geçirgenlik değişiklikleri yalnızca ısı etkisine bağlanamaz. Non-termal etki ile biyolojik membranların iki tarafındaki iyon konsantrasyonunun değiştiğini ve böylece difüzyon olayının arttığını Lehmann ileri sürmüştür ve ispat etmiştir.

Periferik sinirlerde iletili hızını değiştirip geçici bloklar meydana getirebilir. Farklı sinir lifleri farklı duyarlılık gösterir. C lifleri en küçük çaplı olup aynı zamanda en duyarlı olanlarıdır. Araştırmacılar, US'un sempatik sinir sistemini başlangıçta uyardığını, ancak daha sonra sempatik lifleri felç ettiğini ileri sürmüşlerdir. Buna dayanılarak, periferik vasküler hastalıklarda sempatik ganglionlara yüksek doz US uygulaması yapılmaktadır (35).

US'nun en önemli mekanik etkisi kaviteasyondur; ortamın akışkanlığı yüksek, hücre yoğunluğu düşükse ve yüksek doz US uygulanırsa ortaya çıkar. Kaviteasyon hemoliz, kanama ve doku nekrozuna yol açar. Kaviteasyonu önlemek için uygulama tekniğine dikkat etmeli, sabit uygulamadan kaçınmalı, gereksiz yüksek doz kullanılmamalıdır. Uygun dozda kesikli US doku rejenerasyonunu artırır. Protein sentezi ve yara iyileşmesine etkisinin non-termal olabileceği de kanıtlanmıştır (33).

2.4. Ultrasonun Klinik Uygulaması:

Kliniklerde kullanılan US dalgalarının 0.8-3 mHz, tedavi dozu ortalama 1,5Watt/cm²'dir. Uygulamada başlığın deriye tam uyum sağlaması çok önemlidir. İki arasında kalabilecek en küçük hava kabarcığı US'un yayılmasını önleyebilir. Bu temasın tam olabilmesi için su, vazelin, çeşitli pomad ve kremler, jeller kullanılabilir. İki tip uygulama yapılabilir: birincisi sabit tiptir; başlık belirli bir yerde birkaç dakika tutulur, çok küçük bir alanda fazla ısı oluşturduğu için sakıncalı bir yöntemdir. İkincisi hareketli uygulamadır; başlık sirküler veya ileri geri hareketlerle gezdirilir, böylece geniş bir alan tedavi edilmiş olup ısının belli bir bölgeye hapsolmesi önlenir. El, ayak, dirsek vb. çok girintili çıkıntılı dar alanlara ve dokunma ile çok ağrılı bölgelere US tedavisi en iyi su içinde yapılabilir. Tedavi edilecek bölge tamamen açıkta olmalıdır. Uygulanacak doz her hasta ve hastalık için doktor tarafından seçilir. Ağrı meydana gelmesi dozun fazla olduğunu gösterir. Bir seansta 5-15 dk. tedavi yapılır. İdeal olanı günde bir seans uygulanmasıdır. Zorunlu durumlarda günde iki kez uygulanabilir.

Ayrıca US uygulanarak bazı ilaçları cilt yolu ile vücuda sokmak mümkündür. Buna fonoforezis denir. Fonoforezis'te US frekansına da bağlı olmak üzere ilacın penetrasyon derinliği 5-10 cm arasında değişir.

2.5. Ultrason Tedavisini Endikasyonları:

1. Eklem dışı romatizmalar: Bursit, periartirit, fibrozit, tenosinovit, miyozit,
2. Eklem hastalıkları: Romatoid artrit ve ankilozan spondilit'in inaktif dönemleri, osteoartrozlar, disk herniasyonları,
3. Periferik sinir hastalıkları: Nöralji, kozalji, radikülit, fantom ağrıları,
4. Posttravmatik lezyonlar: Sikatris dokunun, keloidlerin giderilmesinde, burkulma ve zorlanmalarda,
5. Periferik vasküler hastalıklarda: Raynaud fenomeni, Buerguer hastalığı, anjiospazm gibi hastalıklarda US yüksek dozlarda sempatik sinir ganglionlarına, uygulanır (35).

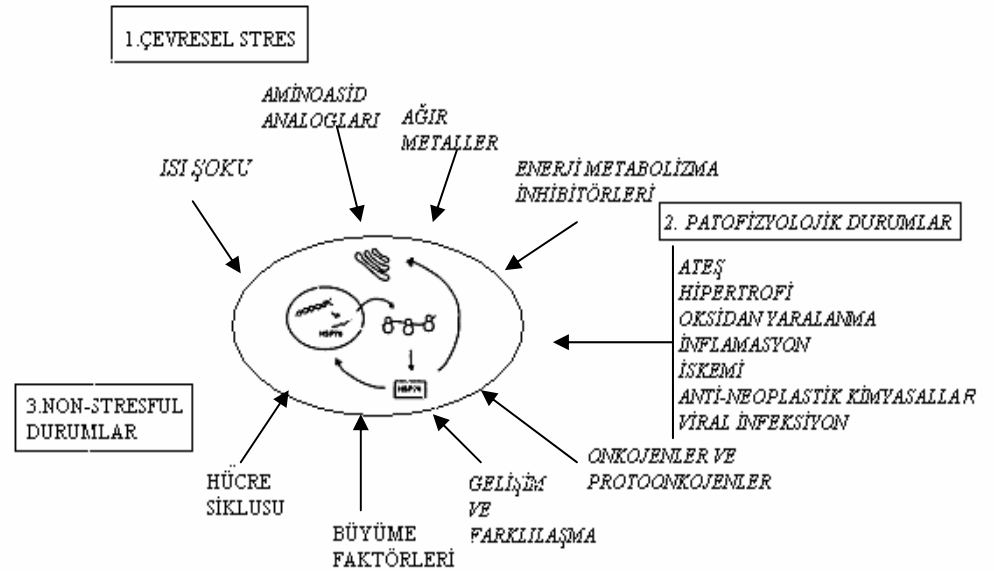
2.6. Ultrason Tedavisinin Kontrendikasyonları:

1. İçi su dolu boşluklar üzerine, göz, kalp, testis, beyin, gebe uterus, karaciğer, dalak gibi organlara, laminektomi sonrası medulla spinalis veya kauda ekuina üzerine,
2. Periferik vasküler yetersizliklerde iskemik alanlara, duyarlılığı kaybolmuş bölgelere,
3. Dekompanse kalp yetmezliğinde,
4. Kanser ve prekanseröz lezyonlarda, metastatik tümörlerde,
5. Tüberkülozda,
6. Büyüme-gelişme çağında epifizler üzerine,
7. Akut enfeksiyonlarda,
8. Hemorajik diyatezlerde uygulanmamalıdır (35).

3. ISI ŞOK PROTEİNLERİ

3.1. Isı Şok Proteinlerinin Tanımı:

1962’de Ritossa tarafından keşfedilen Isı Şok Proteinleri (HSP); ilk olarak yüksek ısıya maruz bırakılan *Drosophila* (sirke sineği) tükrük bezi hücrelerindeki kromozomal kümelerde tariflenmiştir (36, 37). Takip eden onlu yıllarda ; birçok araştırmacı HSP’lerin filogenetik olarak -prokaryotlar, mayalar ve bitkilerden ökaryotlara kadar bütün organizmalarda bulunan çok korunmuş familyalardan biri olduğunu göstermişlerdir (37). HSP’lerin keşfinden sonra; iskemi, hipoksi, basınç artması, ağır metaller, serbest oksijen radikalleri, protein kinaz C, kalsiyum ajanının artması, etanol, aminoasid ve glukoz analogları, inflamasyon, sodyum arsenit, hormonlar, antibiyotikler, sitokinler ve enfeksiyonu içeren stresin yoğun olduğu durumlarda HSP yükselmesinin tetiklenebileceği izlenmiştir (36-40). HSP ekspresyonunun artması gelişim ve farklılaşma gibi normal fizyolojik durumların sonucuyuda uyarılabilir (36, 38). Özellikle HSP 70 ve 27 ‘nin yüksek ısı, iskemi, oksidatif stres ve antikanser ilaçlarla uyarıldığı izlenmektedir (36).



Şekil 2. Isı şok protein ekspresyonu (36. kaynaktan uyarlanmıştır)

3.2. Isı Şok Protein Ailesi ve Fonksiyonları:

HSP'ler moleküler ağırlıklarına göre familyalarla karakterizedir. Tipik olarak HSP 78, 75, 60 ve 10 organellerde bulunur. HSP 110, 90, 73,72 ve 20 nükleus ve sitozolde mevcuttur. Her bir HSP'nin birçok belgelenmiş fonksiyonu vardır ve hücre içinde çeşitli lokalizasyonlarda bulunurlar (36). Selüler seviyede HSP'ler endoplasmik retikulum, mitokondri, sitozol ve nükleusta günlük streslere cevap olarak düşük seviyelerde vardır (36, 38).

HSP lokalizasyonları ve spesifik fonksiyonları (36. kaynaktan uyarlanmıştır)

Aile	Şaperon üyeleri	Hücedeki yeri	Fonksiyonları
HSP 100	HSP 104	sitoplazma	termotolerans
HSP 90	HSP 90 Grp 94	sitoplazma endoplasmik retikulum	hormon ortaya çıkana kadar kesin hormon resptörlerinin inaktif formlarını stabilize eder; belli protein kinazlarla plama membranından geçmeleri için etkileşime girer; denatüre proteinlerin agregasyonunu önler.
HSP 70	HSC 70 HSP 70 BipGRP78 Grp75	sitoplazma/nükleus sitoplazma/nükleus ER mitokondri	translokasyon/katlanma için önceden katlanmış/katlanmamış yapıları stabilize eder; immünooglobulinlerin toplanması; Yaşlı proteinleri lizozomlara degradasyon için yönlendirmek; protein sekresyonu; antijen presentasyonu; termotolerans; belli immünoşüpresanlarla etkileşim
HSP 60	HSP 60	mitokondri	katlanma/toplanma için ön katlanmaya uğramış yapıları stabilize eder; prekürsörlerin membrana yeniden taşınması
HSP 40	HSP 40	mitokondri sitoplazma/nükleus	şaperon aktivitesi; ATP' az oranı ve substrat salınımının artması yoluyla HSP 70 ile özel ko-şaperon
Küçük HSP	HSP 27 Alfa A ve Alfa B kristalins	sitoplazma sitoplazma	polipeptid agregasyonunu önler; mikrofilamentleri stabilizasyon yoluyla termotolerans; hücre büyümesinde sorumlu rolü vardır.

3.3. Isı Şok Proteinleri ve İmmünite:

HSP ve onun gen ürünleri biyolojide çok yüksek şekilde korunmuş sistemlerden biridir. Bakteriyel HSP'ler mürin (sıçan) ve insan immün yanıtlarının en potent bilinen aktivatörlerinden biri olduğu bilinmektedir ve çeşitli adjuvanların esansiyel bileşenleridir; son zamanlarda HSP'lerin makrofajlar ve dentritik hücreler üzerinde Toll-like-reseptörler (TLR) ve diğer reseptörlerle etkileşime girdiği anlaşılmıştır. Yakın zamanda HSP'lerin antijen sunan hücrelerde TLR'ler ve diğer reseptörler için ligand gibi görev yapabildiği keşfedilmiştir (41).

HSP'nin temel görevi hücreyi korumaktır. Bu görevini hücre içinde DNA kırılmalarının engellenmesi, proteinlerin taşınması, reaktif oksijen metabolitlerinin ortadan kaldırılması yolları ile gerçekleştirmektedir. Ancak bu görevleri sırasında bazen HSP hücre yüzeyinde eksprese olmaktadır ve yüzeyde eksprese edilmeye başlayınca da ciddi bir immün yanıtın başlamasına neden olmaktadır. HSP'lerin lipidlere bağlanma yeteneği sayesinde, hücrenin strese maruz kaldığı durumlarda hasar görmesi halinde, hücre içi pH değişikliği olması nedeniyle, hücre membran lipidlerine bağlanmanın arttığı ve bu yolla yüzeye transfer oldukları düşünülmektedir (38). HSP ekspresyonu özellikle kanser gibi birçok patolojik durumla da birliktedir. Son yıllarda HSP'ler kanser tedavisi için bir araç olarak önerilmiştir. Eğer kesin tümör hücrelerinin yüzeyinde belirlenirse, tümörle ilgili aktivasyon yapısı (örneğin; HSP 70) olarak fonksiyon görebilir; böylece Natural Killer hücrelerinin yanıtının aktivasyonunu yapar veya antijen sunan moleküller olarak HSP-peptid kompleksi (HSP-PC)'nde, ilgili peptidler yoluyla T hücrelerince spesifik bir immün yanıt ortaya çıkarır. Çok yakın zamanda HSP'ler; selektif kemokinler (CC ve CXC kemokinler) ve onların reseptörleri, sitokinler (IL 1, IL 8, İnterferon, TGF beta, TNF alfa), akut faz proteinleri, Natural Killer hücre reseptör ve molekülleri, Toll sinyal yollarının aşağı akışını ve yukarı akışını indükleyerek doğal immün sistemin ‘tehlike sinyalleri ’’ olduğu keşfedildi (37).

HSP'lerin ateşe benzer şekilde fizyolojik termal değişimlerle indüklendiği çeşitli çalışmalarca gözlemlenmiştir. Ateşin enfeksiyon ve diğer hastalık durumlarına karşı organizmayı koruyan önemli yollarda HSP'leri kullanmayı ve bu yollarla etkileşmesi; ateş ve HSP'lerin uzun gelişimsel korumasını düşündürür.

İmmün yanıt-HSP-Febril yanıt'ın oluşturduğu bu triadın henüz geniş şekilde karakterize edilememiş moleküler etkileşimleri ve fonksiyonel sonuçları biyomedikal araştırmalarda en önemli çözülmeyen sırlardan biridir ve gelecek yıllarda termal terapinin biyomedikal çıkarımlarında adres gösterilen çoğu soru için temel oluşturur (41).

Yapılan çalışmalarda hem klamidyal, hemde insan HSP 60'ın E-selectin, ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (39).

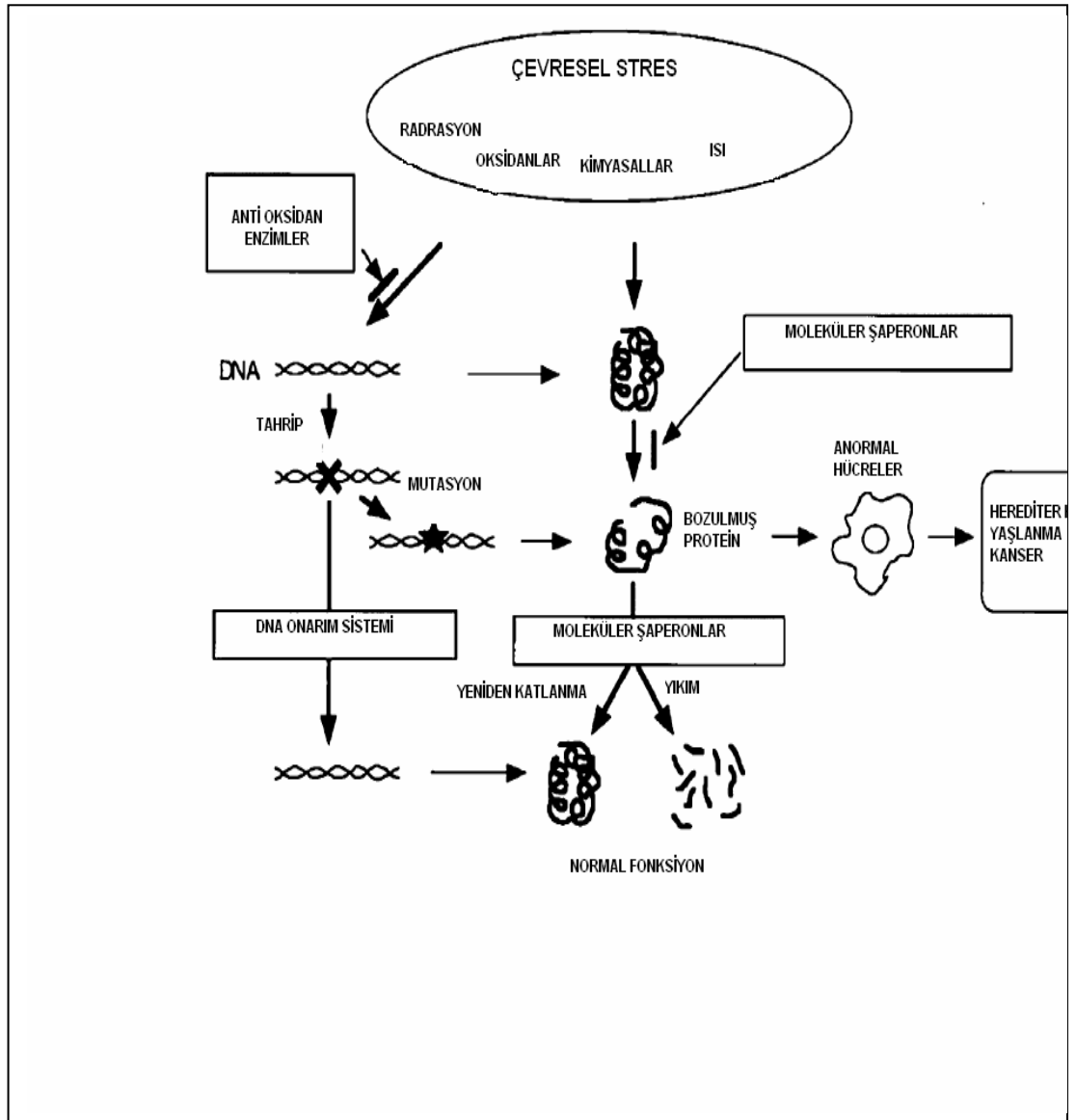
3.4. Hücresel Stres Cevabı:

Strese maruz bırakıldığında HSP konsantrasyonunun artması kültüre hücreler ve hayvan dokularının her ikisi için de korumayı sağladığı görülmektedir. Stresin indüklediği, indüklenebilir HSP birikimi ile ilişkili ilk fizyolojik fonksiyondan biri kazanılmış termotoleranstır. Kazanılmış termotolerans; hücre veya organizmanın ısı stresinden sonra, öldürücü ısı maruziyeti öncesinde direnç geliştirme yeteneği olarak tanımlanır. Kazanılmış termotolerans fenomeni geçicidir ve başlıca başlangıçtaki ısı stresinin şiddetine bağlıdır. Genel olarak başlangıçtaki ısı dozu fazlaysa termotoleransın büyüklüğü ve süreside o kadar fazladır. Isıyı takip eden termotoleranstaki ekspresyon birkaç saat içinde meydana gelir, maksimum ekspresyon baş thermal uyarıyı takiben 16-18 saat içinde meydana gelir ve süresi 3-5 gün sürebilir. HSP seviyesinin artması ile selüler termotoleransın artması arasındaki kesin mekanizma belirlenememiştir (36).

Hücrelerin 42 °C'lik fatal olmayan ilk şok doza maruz kaldıktan sonra fatal doz olan 46 °C'ye de kolay uyum sağladıkları gözlenmiştir. İlk şoka maruz kalan hücrelerin daha sonra normal protein sentezini durdurarak yeni bazı proteinlerin sentezine başladıkları saptanmıştır. Bu proteinlerin sadece ısı şokuna değil hücreye yönelik stres yaratan değişik ajanların saldırılarına karşıda cevap olarak üretimlerinin artması "stres proteinleri" olarak adlandırılmalarına neden olmuştur (39).

HSP'ler protein katlanması ve translokasyonuna yardım eden moleküler şaperonlardır (37). Moleküler şaperon terimi; stres proteinlerinin, selüler proteinlere onların transport veya migrasyonuna yardım etmek için bağlanma yeteneği olarak tanımlanır (42). Selüler stres altında proteinler denatüre olur ve agregatlar oluşturabilir, bu olay nihayetinde hücre ölümüyle sonuçlanacaktır. HSP'ler hücre stresi esnasında selüler proteinlere bağlanarak agregatlaşmaktan onları korur ve

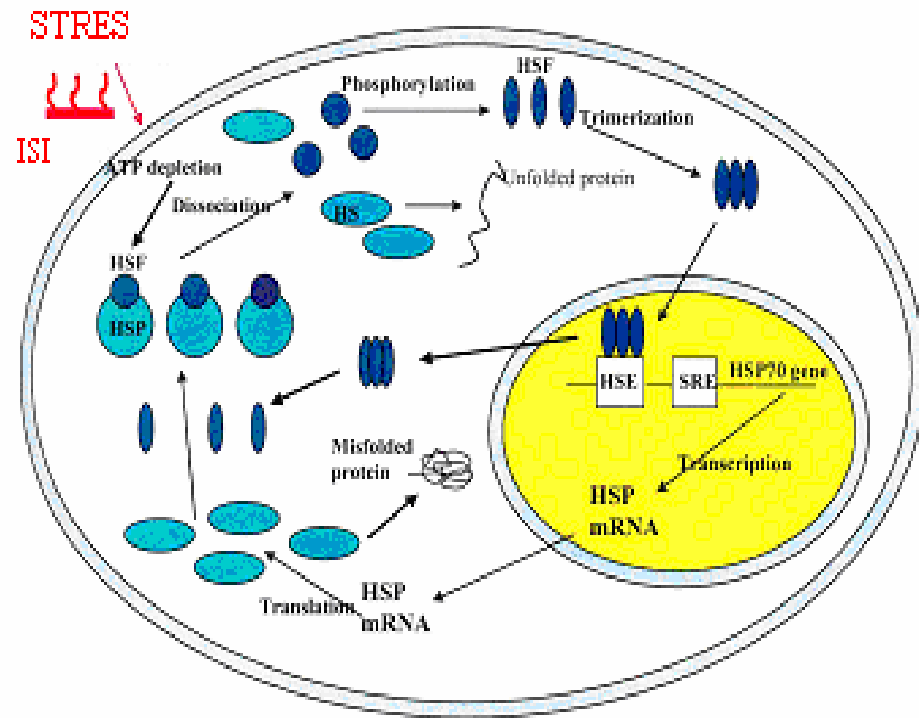
degrade ve kötü katlanmış polipeptidlere bağlanması ile tahrip olmuş hücrelerin iyileşmesine yardım eder. HSP'ler proteinlerin hatalı katlanmasını ve agregasyonunu önler ve denatüre proteinlerin yeniden katlanmasını (refolding) ve degradasyonunu kolaylaştırır (36, 37, 42). HSP 70 arada katlanmamış durumda olan proteinlerin prematürken bağlanmasını engeller. Ek olarak şaperonlar, matür proteinler oluştuktan sonra fonksiyonlarının fasilite edilmesinde rol alırlar (43).



Şekil 3. Stresle uyarılan ısı şok proteinlerinin şaperon fonksiyonu (36.kaynaktan uyarlanmıştır)

HSP'lerin şaperon fonksiyonlarına ek olarak çok sayıda diğer koruyucu rolleride vardır.Özellikle HSP 70 ve 27 apoptozisi inhibe ettiği ve böylece öldürücü uyarılara maruz kalan hücrelerde yaşamı artırdığı gösterilmiştir (36, 44,45,46). İnvivo ve invitro çalışmalar ısı uygulamalarının HSP ekspresyonu için major stimulus olduğunu göstermiştir. Termal ablatif injüriyi takiben, HSP senteziyle apoptozis inhibe olur ve progresif injüriyi sınırlayarak tahrip olmuş hücrelerin iyileşmesine yardım edebilir (44).

Isı şok cevabının transkripsiyonu Isı Şok Faktörü (HSF) ile kontrol edilir. Normal şartlar altında HSF'ler HSP'lere bağlıdır ve inaktiftir. HSF'ler, Isı Şok Elementi (HSE) olarak bilinen hedef sırasının tanınmasından sorumludur. HSE, beş tekrarlı NGAAN sıralı zincirden oluşur. Isı şoku gibi stres mevcudiyetinde, HSF'ler HSP'lerden ayrılır, protein kinaz veya diğer serin/treonin kinazlar HSF'leri fosforile eder, sitozolde HSF'lerin trimer formları oluşur. Bu HSF timerleri nükleusa girer ve HSP 70 genindeki HSE'ye bağlanır. Bağlanmayı takiben HSF'ler fosforile olur ve HSP mRNA transkripsiyonu olur, HSP mRNA nükleustan sitoplazmaya çıkar. Sitoplazma içinde yeni HSP'ler sentez edilir (translasyon). HSF'ler sitoplazmaya döner ve stres maruziyetinden önce HSP'lerdeki orijinal bölgelerine bağlanırlar. Multipl HSE'ler HSP geninde promoter bölgede bulunur, HSE'lere ek olarak promoter bölgede Serum Cevap Elementi (SRE) vardır. SRE serum stimülasyonuna cevap verir ve hücrelerde HSP ekspresyonunun bazal seviyesini mevcudiyetinden sorumludur. İnsanlar HSP geninin multipl kopyalarına sahiptir. HSP DNA'sının kodlanmasının önemli özelliği intronlardan yoksun kodlanmasıdır. HSP mRNA ve HSP'ler; HSP mRNA transkripsiyonu için RNA'ya bağlanması gerekmeyeceği için full stres uyarılarda aşırı hızlı üretilebilir (36).

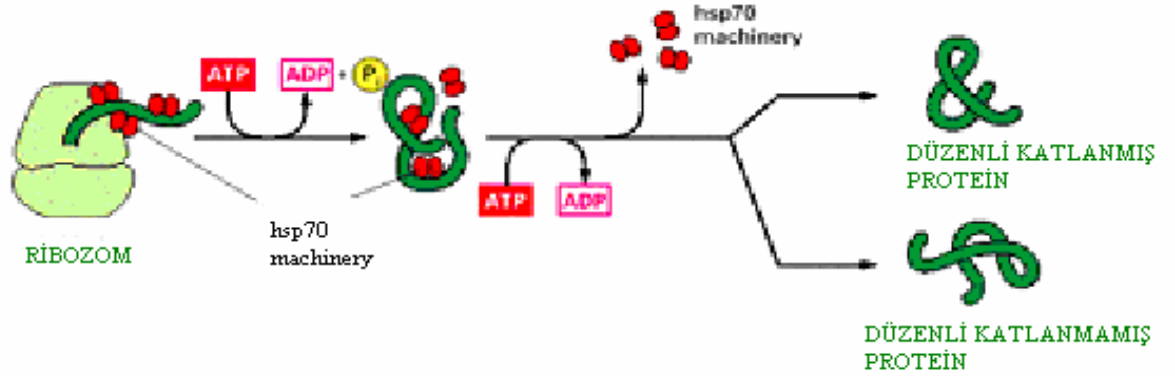


Şekil 4. Stresle uyarılan HSP gen transkripsiyonunun sistematik mekanizması (36)

3.5. Şaperon Mekanizması:

Spesifik şaperon mekanizması her bir HSP için farklıdır. HSP 70, protein yüzeyindeki küçük esnek hidrofobik aminoasidin tanınması ile uygunsuz katlanmış proteinleri keşfeder. Küçük bir HSP 40 protein kümesinin yardımıyla HSP 70 monomerleri hedef proteine bağlanır ve ATP ADP molekülüne hidrolize olur, bu yapısal değişiklik HSP 70'in hedefe sıkıca kenetlenmesine neden olur. HSP 40'ın ayrılmasından sonra, HSP 70 proteininin ayrılması ATP'den ADP salınımının olması ile uyarılır. HSP proteinlerinin bağlanması ve ATP'den ADP salınım sikluslarının tekrarlanması hedef proteinlerin tekrar katlanmasına yardım eder.

HSP 70'in apopitotik yolda sitokrom-c salınımı ve başlatıcı caspas aktivasyonunun her ikisini etkileyebildiği ve bu etkiler için şaperon fonksiyonunun gerekli olduğu kanıtlanmıştır (36).



Şekil 5. HSP70'in protein katlama mekanizması
(36.kaynaktan uyarlanmıştır)

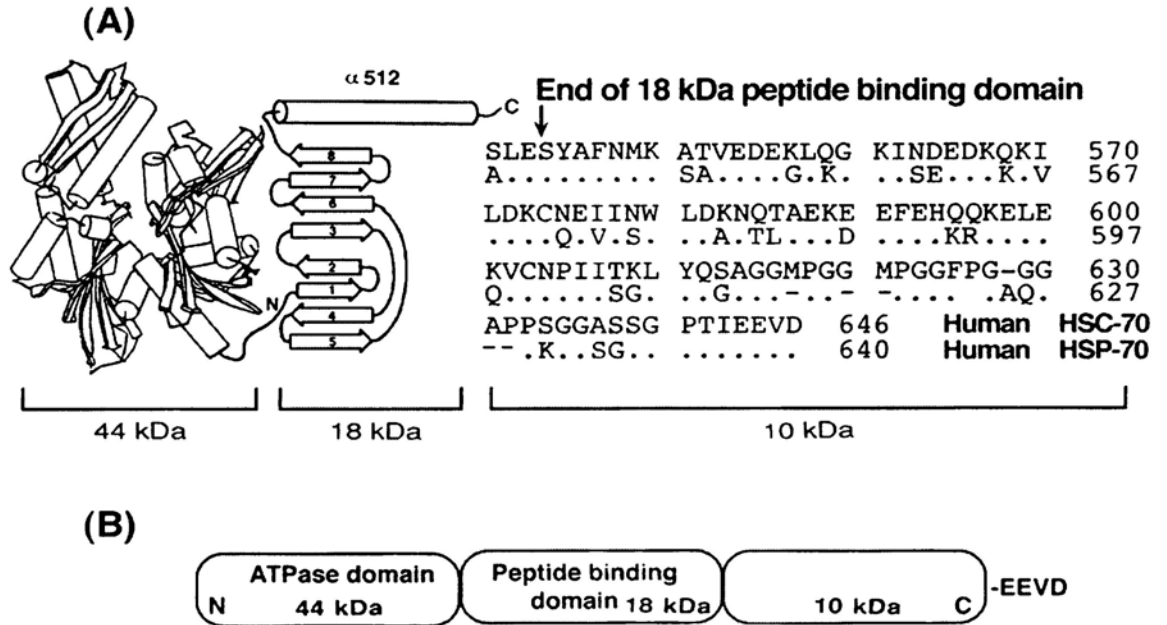
3.6. HSP 70 Moleküler Yapısı:

HSP 70'in moleküler yapısı 3 ana bileşenli (domain) bir ailen oluşur: 44 kDa domain, 18 kDa domain, 10 kDa domain.

44 kDa domain, 136 aminoasid rezidüsünden oluşur ve N terminali aralarında derin bir yarık bulunan 2 lobtan oluşan 4 bileşen içermektedir. 44 kDa domain, ATP'az domain içerir.

18 kDa peptid bağlayan domain 384-543 aminoasid rezidüsünden oluşur ve iki tane 4 bağlamli antiparalel yaprak ve tek helixten oluşmaktadır. Bu domain katlanmış ve katlanmamış peptidlerin bağlanmasından sorumlu peptid bağlayan domain içerir.

10 kDa domain, C terminalinde 542-546 aminoasid rezidüsü içerir. Proteinin bu segmenti yüksek derecede korunan EEVD terminal sekansına bitişik glisin-prolinden zengin aperyodik bir segment tarafından takip edilen predominant bir yapıdır (36).



Şekil 6. HSP70 kDa ailesinin moleküler yapısı (36.kaynaktan uyarlanmıştır)

3.7. Osteoartrit ve Isı Şok Proteini 70 (HSP 70):

Osteoartritik kondrositlerde HSP 70 ekspresyonu stres altında artar. HSP 70, invitro ısı şoku yokluğunda, OA'in şiddeti ile pozitif koreledir (47). Takahashi ve ark., cerrahi olarak tedavi edilen 14 bayan hastanın OA'li kıkırdak örneklerini incelemiş ; OA'in histolojik derecesi ile HSP 70 oranı arasında pozitif korelasyon rapor etmiştir (48).

Eklemlerde HSP 70 yalnız ısı stresi ile değil; sitokinlerle (IL 1, IL 2, TNF alfa, İnterferon gama) (49) ve hidrostatik basınçla (50,51) uyarıldığı da rapor edilmiştir. Bir adeno virüs vektör aracılığı ile HSP 70 geni alan, insan kondrosit benzeri hücrelerde, ısı stresiyle ilişkili olarak azalan metabolik aktivite ve süregenliğin iyileştiği gösterilmiştir (52).

Suzuki ve ark., temporomandibular eklemden internal bozukluğu bulunan diskektomi veya artroskopik cerrahi uygulanan hastaların 5 disk, 16 sinovyal doku biopsilerini incelemiş ve kondrositlerde ve sinovyal hücrelerde immünohistokimyasal olarak HSP 70 saptanmış, normal olgularda saptanmamıştır (53).

Günümüzdeki çalışmalar, stresin uyardığı HSP ekspresyonunun yalnız hücreleri korumadığı, çeşitli hücrelerde apoptozisi baskıladığı kanıtlamıştır. Özellikle HSP 70 apoptozisin önemli bir düzenleyicisidir (54). Apoptotik caspasların terapötik olarak düzenlenmesi, OA'in erken fazında büyük yararlar sağlar ve bu olay hayvanlarda ve insanlarda ilerleyici hiposelülarite ve kıkırdak matriks kaybını önleyici yeni terapiler için anahtar kabul edilebilir. Doğal caspas inhibitörleri arasında HSP 70, caspasların aktivite ve aktivasyonunu önler. HSP 70 fonksiyonel apoptozumun oluşum ve oligomerizasyonunda önler. Grossin ve ark., deneysel OA oluşturulan ratlarda, patellar kondrositlerde aktive caspas-3 saptanması ile patellar kıkırdakta histolojik olarak caspasa bağlı-apoptozis kanıtlanmışlardır ve özellikle caspas-3 pozitif hücrelerde apoptotik olaylarda HSP 70 uyarılması ile dramatik azalma görülmüştür (55). Apoptotik olaylarla, farklı stres proteinleri arasındaki negatif dengesizlik rat tibiasının yüzeyindeki büyüyen kondrosit hücrelerinde de izlenmiştir (56). Terauchi ve ark., bir adenovirüs vektör aracılığı ile taşınan HSP 70'in, rabbit kondrositlerinde nitrik oksit veya sturosporinle uyarılan apoptozisi, stokrom-c salınımının aşağı akışını ve caspas-3 aktivasyonunun yukarı akışını

engelleyerek apoptozisi inhibe ettiğini göstermişlerdir (54). HSP 70'in rolü caspaslarla sınırlı değildir ve bir caspasa bağlı olmadan apoptozis-inducing faktör (AIF) ile direkt etkileşime girerek apoptozisi önleyebilir (55). OA'de kıkırdakta HSP 70'in yüksek ekspresyonuna rağmen, OA'de apoptozise bağlı büyük oranda kondrosit ölümlerinin nedeni çözümlenememiştir. Artiküler dokudaki hücreler oldukça heterojendir ve aynı uyarılar farklı hücrelerde, farklı sonuçlar meydana getirebilir. Örneğin; bazı tip hücreler HSP ekspresyonu ile strese karşı tolerans kazanabilir, oysa diğer hücreler yeterli miktarda HSP ekspresyonunu başaramaz ve apoptozise uğrar. Aslında *invivo* ve *invitro* deneylerde hem HSP 70 overekspresyonu ve apoptozis aynı anda gözlenmektedir. Kondrositlerde eğer HSP ekspresyon seviyesi yetersizse stres altında apoptozise uğrayabilir. Dejenere kıkırdakta, kondrosit apoptozisinin azalması için metodların gelişmesi, OA terapisi için yeni bir strateji sağlayabilir (54).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mayıs 2007 - Nisan 2008 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik tedavi ve Rehabilitasyon, Ortopedi, Mikrobiyoloji ve Patoloji Anabilim dallarında yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 07.12.2006 tarih ve B.30.2.CUM.O.1H.OO. OO/ 2006/71 sayı ile onay alınmıştır.

4.1. HASTA GRUBU

Bu araştırmada CÜTF Hastenesi Ortopedi ve Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalına başvuran, meniskopatili/gonartrozlu/anterior krusiyat ligament yaralanması nedeniyle artroskopi ve gonartroz nedeniyle artroplasti yapılan hastalardan 41 hasta çalışmaya alındı. 12 hasta da meniskopati, 3 hasta da anterior krusiyat ligament yaralanması, 24 hastada da gonartroz/gonartroz+meniskopati mevcuttu. Hastalar yaş ve cinsiyetlerine göre gruplara homojen bir şekilde dağıtılarak, 3 gruba bölündü. 1.gruba; artroskopi öncesi 5 gün, frekansı 3 mHz , yoğunluğu 1.5W/cm² Medserve Prosound 1000 ultrason cihazıyla, günde 1 defa ultrason tedavisi uygulandı. 2.gruba; plasebo ultrason yapıldı, 3. gruba; ultrason tedavisi yapılmadı. Tüm hastaların antero-posterior ve lateral diz grafileri, varsa diz MRI'ı değerlendirildi, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri ölçüldü. Lokomotor sistem muayenesinde; dizinde aktif sinoviti olan hastalar, ESH ve CRP düzeyleri yüksek olan hastalar çalışmaya alınmadı.

4.2. SİNOVİYAL DOKULARIN İNCELENMESİ

4.2.1. Sinovyal Dokuların Alınması ve Saklanması

Sinovyal dokular, artroskopi ve artroplasti yapılan hastalardan alındı. 1.5 ml'lik ependorf tüplere konulan dokular, sıvı nitrojende dondurularak, çalışma başlayıncaya kadar -80 °C'lik buzdolabında saklandı.

4.2.2. Sinovyal Doku Ekstraksiyonu ve Homojenizasyonu

RIPA buffer (1X'lik fosfatlanmış tampon solüsyonu (PBS) içine %1 NP 40 solüsyon (Sigma, Germany), %0.5 Deoxycholic acid sodium salt (Fluca, Italy), %0.1 sodium dodecyl sulfate (Merc, Germany) konularak hazırlandı.) ile 3 proteaz inhibitörü : aprotinin (1:100) (Sigma, Germany), phenylmethyl-sulphonyl fluoride

(PMSF, 1:100) (Sigma, Germany) ve pepstatin A (1:1000) (Sigma, Germany) hazırlandı. -80 °C'lik buzdolabından çıkarılan sinovyal doku örneklerine 500 mikrolitre RIPA buffer, 1'er mikrolitre proteinaz inhibitörleri eklendi. Örnekler buz içinde, Heidolph DiAx 1000 marka homojenizatör cihazı ile homojenize edildi. Homojenize örnekler 30 dakika buz içinde bekletildi ve 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar protein analizi için toplandı.

4.2.3. Protein Konsantrasyonunun Saptanması:

Sinovyal doku süpernatantlarına; 1X'lik PBS, proteaz inhibitörleri ve coomassie blue eklenerek mavi renkli çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin, U.V'de 565 nanometrede absorbansı okundu. Daha önceden hazırlanan standart eğri grafiklerinden yararlanılarak örneklerimizin protein miktarı tayin edildi (Bradford tekniği).

4.3.3. ELISA ve Western Blot Yöntemiyle HSP 70 protein ekspresyonu bakılması:

Her doku ekstraktından 100 mikrogram protein, kuyucuklara yüklenerek, HSP 70 ELISA kiti (Stressgen) kullanılarak, ELISA yöntemiyle HSP 70 protein ekspresyonuna bakıldı.

Her doku ekstraktından 15 mikrogram protein (15 mikrolitre), NuPAGE Novex %10 Bis-Tris jel (Invitrogen) içindeki kuyucuklara yerleştirildi. Hazırlanan örnekler kuyucuklara yüklendikten sonra kaset 1X SDS-PAGE yürütme tamponu ile doldurulmuş Ultra Gel XL Komple Elektroforez Sistemi (Invitrogen) içine yerleştirildi. Örnekler, derişim jelindeyken 100 Voltta, ayırma jeline geçtikleri andan itibaren ise 200 Voltta yürütüldü. Yürütme, yükleme tamponunda bulunan bromofenol mavisi ayırma jelinden çıktıktan sonra 20 dakika daha sürdürüldükten sonra durduruldu. Daha sonra jel çıkarılarak %50 asetik asit çözeltisinde yıkandı. Jel üzerinde bantlar görülmemesi üzerine Western Blot aşamasına geçilemedi.

4.3.4. İmmünohistokimya Yöntemiyle HSP 70 Ekspresyonu Bakılması:

İmmünohistokimyasal inceleme için her bir çalışma grubuna (Kontrol, Plasebo ve Ultrason tedavisi almış gruplar) ait 42 adet olgudan alınan sinovyal doku biyopsi örnekleri %10 luk formaldehit solüsyonunda 24 saat tespit edildi ve daha sonra doku takibi yapılarak parafine gömüldü. Parafin bloklara gömülü doku kesitlerinden 3 µm kalınlıkta kesitler yapılarak polilizin-L ile kaplı lamlara alınarak bunlara hücre ısı şok proteini olan Heat Shock Protein 70 (HSP70) Ab-3 (Rabbit PAb IgG, Cat. # RB-080-R7, Labvision, USA 2007) kullanılarak Avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Pozitif kontrol olarak dil dokusunda oluşmuş skuamöz hücreli karsinom negatif kontrol olarak da primer antikor yerine Phosphate Buffer Saline (PBS) kullanılarak diğer basamaklar aynen kullanıldı.

Boyama yöntemi:

Boyama işlemi, nemlendirilmiş, ısısı 24 °C'ye kadar çıkarılmış, zemini ıslak bir ortamda uygulandı.

1. Formalinle fikse edilen ve parafine gömülü bloklardan 3-5 µm kalınlığında hazırlanan doku kesitleri önce 65 °C'de bir gece etüvde bekletildikten sonra 50°C'de 30 dakika süreyle ksilende deparafinize edildi.

2. Bu işlemden sonra dokular sırayla 5'er dakika 80°, 90°, 96°'lik alkollerden geçirilerek dehidrate edildi.

3. Dehidratasyondan sonra 5 dakika distile suda ve 10 dakika PBS solüsyonunda tutulan preparatlar endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için 5 dakika hidrojen peroksit ile inkübe edildi.

4. PBS solüsyonunda 10 dakika tutulduktan sonra dokudaki antijenleri daha iyi ortaya çıkarabilmek için kesitler mikrodalga fırında 35 dakika yüksek ısıda pH değeri 8,1 olan EDTA tamponu kullanıldı. Takiben 20 dakika aynı solüsyonlar içerisinde oda ısısında tutuldu.

5. PBS solüsyonunda 10 dakika bekletilen kesitlere U-V blok ile 20 dakika inkübasyon uygulandı.

6. PBS solüsyonundan geçirilen preparatlar kullanıma hazır solüsyonları olan anti-HSP70 ile 2 saat oda ısısında ve nemli ortamda inkübe edildi, takiben 10 dakika

PBS'te tutuldu.

7. Bağlayıcı solüsyon (Link) ile 20 dakika oda ısısında inkübasyon yapıldı. Takiben 10 dakika PBS'te tutuldu.

8. Streptavidin-Peroksidaz (Label) ile 20 dakika oda ısısında inkübe edildi ve 10 dakika PBS'te tutuldu.

9. Son olarak substrat kromojen karışımı ile renklendirme işlemi yapıldı. Bunun için 1 damla AEC kromojen ile 2 ml H₂O₂ ile substrat tamponu karışımından oluşan dilüsyon ile hazırlanan solüsyon ile 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.

10. Zıt boyama için 1 dakika süreyle Mayer'in Hematoksilen'in kullanıma hazır formu uygulandı. Takiben distile sudan geçirildi. Doku kurutuldu ve immün mount kullanılarak lamel ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal değerlendirme için HSP70 ile boyanan sinovyal epitelde nükleer boyanmalar esas alındı. Boyanmanın en yoğun olduğu üç alan seçilerek her birinde 100 hücre sayıldı ve sayılan 100 hücre içinde HSP70 ile nükleer boyanma gösteren epitel hücre sayısı yüzde değeri olarak verildi ve her üç alanda elde edilen değerlerin yüzdelerinin ortalaması alındı. Buna göre sinovyal epitel hücrelerinde % 0-5 boyanma negatif (-); %5-25 boyanma (+); 25-75 boyanma (++); 75 ve üzeri boyanma (+++) olarak kabul edildi ve bu skala üzerinden değerlendirme yapıldı.

4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın verileri SPSS (ver 10.0) programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde KHİ-Kare testi, Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi uygulanmıştır ve p<0,005 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya aldığımız 41 hastadan; 1. gruptaki 14 birey ultrason tedavisi almayan, 2. gruptaki 13 birey plasebo ultrason uygulananlar, 3. gruptaki 14 birey ultrason tedavisi alanlardan oluşmuştur. Bireylerin yaş, vücut kitle indeksi (BMI) ve cinsiyet yönünden dağılımları aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 1. Gruplardaki bireylerin yaş, BMI ve cinsiyet yönünden karşılaştırılması

GRUPLAR	YAŞ ort ± ss	BMI ort ± ss	CİNSİYET	
			ERKEK	KADIN
Kontrol (n=14)	38,35±20,82	28,70±6,37	10/14=71,4	4/14=28,6
Plasebo (n=13)	40,76±16,70	27,77±4,55	8/13=61,5	5/13=38,5
Ultrason (n=14)	46,14±17,91	29,57±5,56	9/14=64,3	6/14=35,7
SONUÇ	KW=2,41 p>0,05	KW=0.66 p>0,05	x ² =0,31 p>0,05	

Her 3 gruptaki bireylerin yaş, BMI ve cinsiyet yönünden karşılaştırıldığında gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur (p>0,05) (Tablo 1).

ELISA ile değerlendirilen HSP 70 protein ekspresyonu sonuçları:

Tablo 2. Her 3 gruptaki bireylerin HSP 70 değerlerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	HSP 70 (ng/ml) ort ± ss
Kontrol (n=14)	13,42±22,03
Plasebo (n=13)	42,75±0,3477
Ultrason (n=14)	23,37±28,97

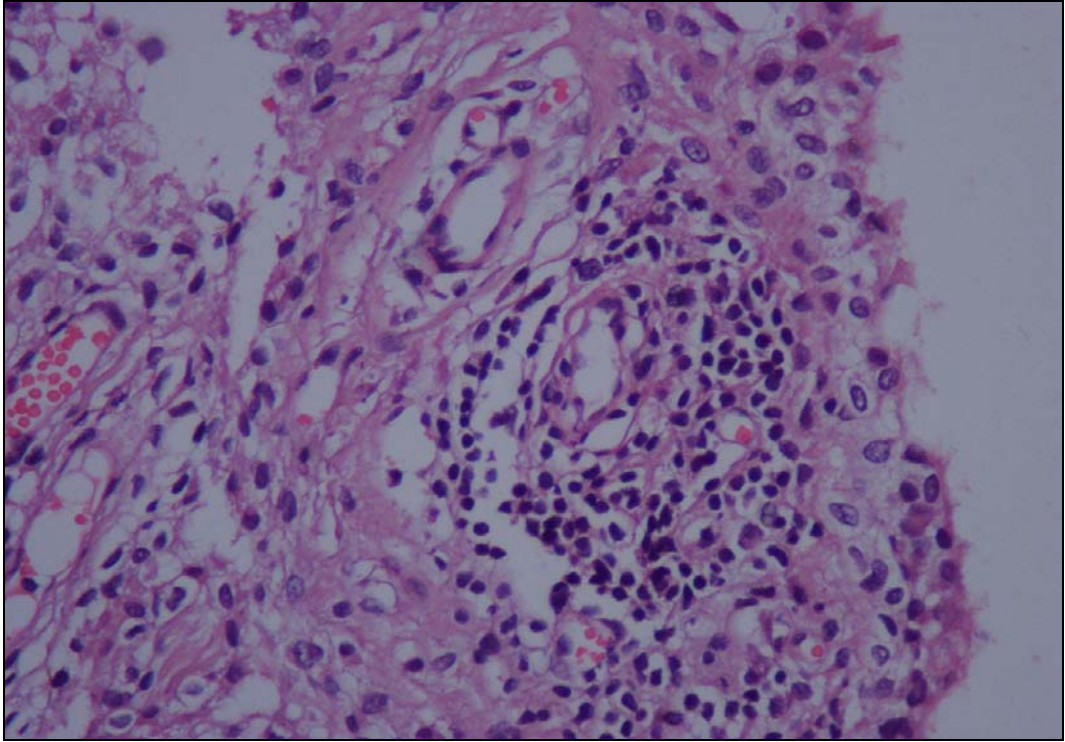
SONUÇ: KW=11,34

p=0,003

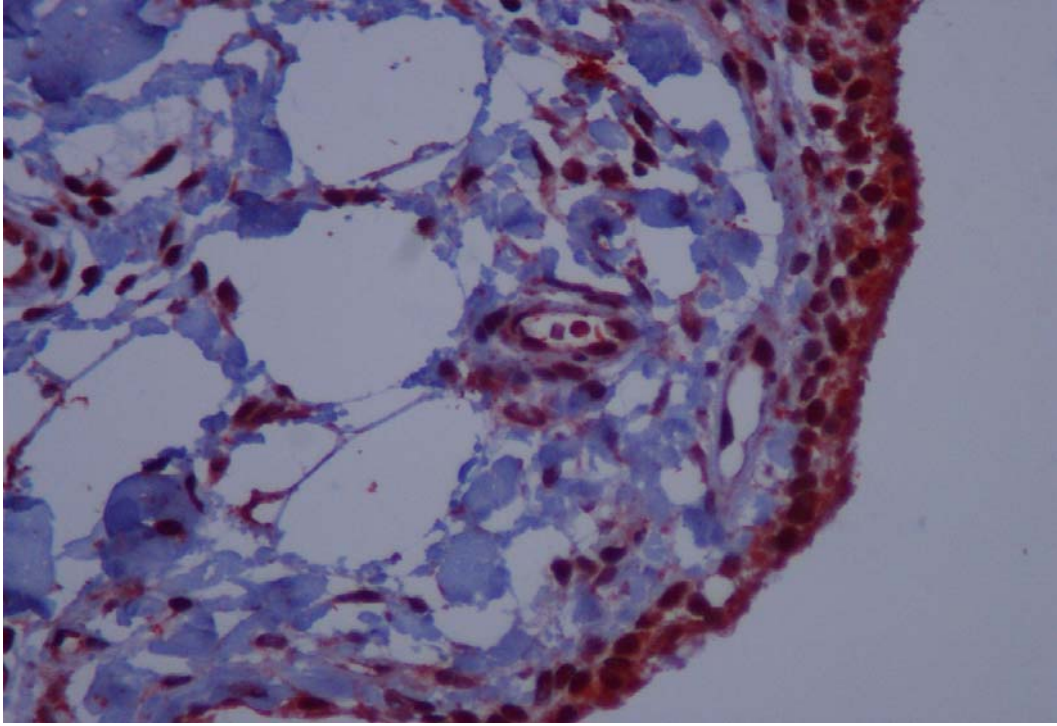
Her 3 gruptaki bireylerin HSP 70 değerleri karşılaştırıldığında; gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 2). Gruplar arası değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile plasebo grubu arasındaki farklılık önemli bulunurken; kontrol grubuyla- ultrason grubu; plasebo grubu ve ultrason grubu arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur.

İmmünohistokimyasal değerlendirme sonuçları

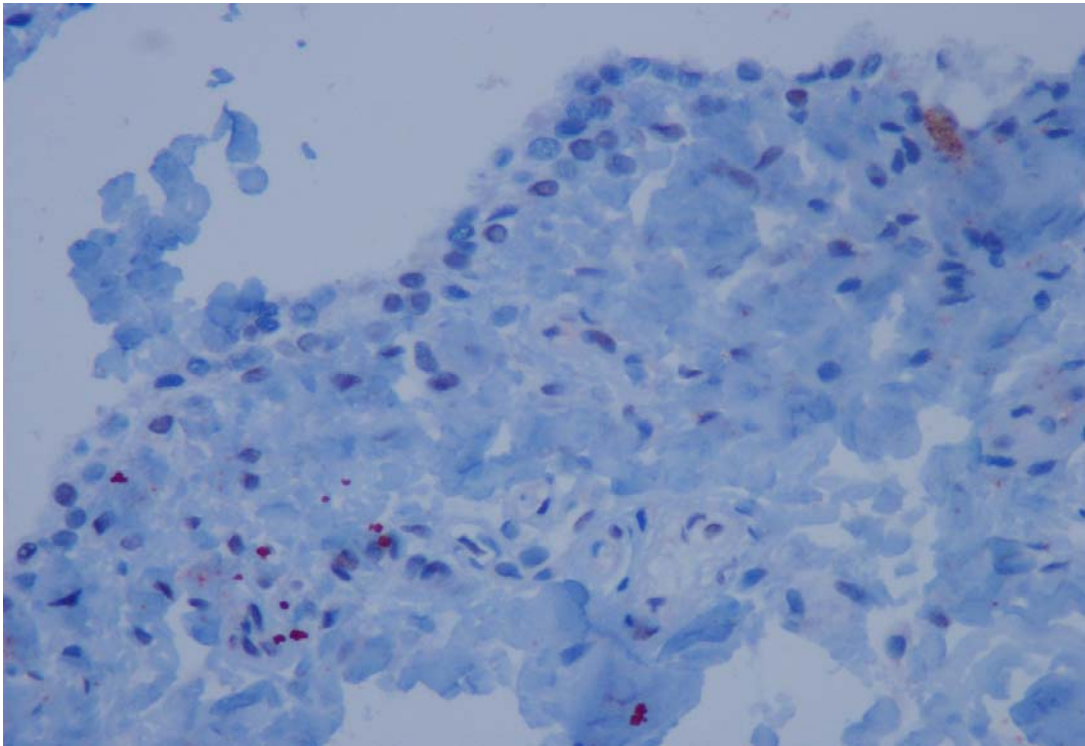
Materyallerin histopatolojik ön incelemesinde kontrol grubuna ait biyopsi örneklerinden birinde (33 numaralı örnek) yeterli sinovyal doku örneği bulunamadığı için bu olgu çalışma kapsamı dışında bırakıldı, kalan 41 adet doku örneğinde sinovyal epitelde HSP70 nükleer ekspresyonuna bakıldı. Buna göre Kontrol grubundaki 13 olgudan birinde (-) (%7,7), üçünde (+) (%23,1), beşinde (++) (%38,5), dördünde ise (+++) (%30,8) HSP70 nükleer ekspresyonu görüldü. Plasebo grubundaki 13 olguda izlenen HSP 70 nükleer ekspresyonu iki olguda (-) (%15,4), iki olguda (+) (%15,4), beş olguda (++) (%38,3) ve dört olguda ise (+++) (%30,8) olarak saptanırken, Ultrason tedavisi alan gruptaki 15 olgudaki HSP70 nükleer ekspresyon oranları ise dört olguda (-) (%26,7), altı olguda (+) (%40,0), iki olguda (++) (%13,3) ve üç olguda (+++) (%20,0) olarak bulundu. (++) ve (+++) değerindeki HSP70 ekspresyonları en fazla Kontrol ve Plasebo gruplarında izlenirken, Ultrasound grubunda daha az (++) ve (+++) ekspresyon saptandı. Ancak İstatistiksel değerlendirme sonucunda HSP70 ekspresyonu yönünden gruplar arası anlamlı farklılık gösterilemedi ($p>0,005$).



Resim 1. Sinovyal dokuda kronik inflamasyon ve epitelde hafif proliferasyon (HE; X200).



Resim 2. Sinovyal doku epitelinde (+++) deęerinde nükleer HSP70 ekspresyonu (İHK; X400).



Resim 3. Sinovyal doku epitelinde (-) nükleer HSP70 ekspresyonu (İHK; X400).

Sinovyal doku yüzey epitelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu:

Tablo 3. Her 3 gruptaki bireylerin sinovyal doku yüzey epitelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu yönünden karşılaştırılması

Gruplar	Yok	Hafif	Orta	Ağır	Toplam
Kontrol n	1	3	5	4	13
%	7,7	23,1	38,5	30,8	100.0
Plasebo n	2	2	5	4	13
%	15,4	15,4	38,5	30,8	100.0
Ultrason n	4	6	2	3	15
%	26,7	40,0	13,3	20,0	100.0
Toplam n	7	11	12	11	41
%	17,1	26,8	29,3	26,8	100.0

$$X^2=5,63$$

$$p= 0.465$$

Sinovyal doku yüzey epitelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu yönünden, gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 3). En fazla orta ve ağır HSP 70 ekspresyon değerlerine kontrol ve plasebo grubunda rastlanırken, ultrason grubunda bu oranlar düşüktür.

Sinovyal doku damar endotelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu:

Tablo 4. Her 3 gruptaki bireylerin sinovyal doku damar endotelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu yönünden karşılaştırılması:

Gruplar	Yok	Hafif	Orta	Ağır	Toplam
Kontrol n	1	2	7	3	13
%	7,7	15,4	53,8	23,1	100.0
Plasebo n	-	2	6	5	13
%		13,4	46,2	38,5	100.0
Ultrason n	-	3	10	2	15
%		20,0	66,7	13,3	100.0
Toplam n	1	7	23	10	41
%	2,4	17,1	56,1	24,4	100.0

$$X^2=4,62$$

$$p= 0.592$$

Sinovyal doku damar endotelinde immünohistokimyasal olarak incelenen HSP 70 ekspresyonu yönünden, gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 4). Ağır HSP 70 ekspresyonuna daha fazla plasebo grubunda rastlanmıştır.

TARTIŞMA

Osteoartrit, eklem kıkırdağında dejenerasyonla karakterize bir hastalıktır. OA'in tedavisi konservatif veya cerrahidir. Tedavi seçiminde hastalığın evresi ve semptomlarına göre davranılır. Konservatif tedavi hastalığın erken evrelerinde etkilidir ve en uygun seçenektir. Konservatif tedavide; medikal tedavi ve fiziksel terapiler kullanılır (1). Termoterapi, fiziksel terapinin bir parçası olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. OA için termoterapide; hotpak, parafin, kısıdalga diatermi mikrodalga ve ultrason kullanılır. Ultrason, eklem kıkırdağında derin dokuları ısıtmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ultrasonik ses dalgalarının çeşitli vücut dokularında emilimi ve yansıması sonucu ısı artışı ortaya çıkar. Ultrasonun vücut dokularında elastikiyeti artırma, damarların vazodilatasyonu ile dokuların aldığı oksijen miktarını artırıp, metabolik atıkların daha kolay uzaklaştırılması nedeniyle hasarlı dokuda iyileştirmeyi hızlandırıcı etkisi vardır (33). Bazı invitro çalışmalar; aşırı ısı stimülasyonunun (48 °C, 10 dakika), kondrositlerde apoptozisi indüklediğini ve proteoglikan sentezini inhibe ettiğini (57); ama uygun ısı stimülasyonunun (39 veya 41 °C'de 15 veya 30 dakika) hücrelerin yaşayabilirliğini ve kondrositlerin proteoglikan metabolizmasını pozitif etkilediğini (58) göstermiştir. Huang ve ark., 27 sıçanı, evre 1, 2, 3 osteoartrit oluşturarak 3 gruba ayırmış ve 4 hafta, haftada 3 gün 7 dakika puls ultrason tedavisi uygulamışlar ve kemik skan ile şiddet indeksini ve hematoksilen-eozin boyama ile histopatolojik bulguları değerlendirmeleri sonucu; kemik skan ile değerlendirilen şiddet indeksinin her çalışma grubunda ultrason sonrası azaldığını, histopatolojik olarak evre 1 OA'de belirgin kıkırdak onarımını, evre 2 ve 3 OA'de ilerleyici kıkırdak kaybının belirgin azaldığını rapor ettiler (59).

Isı şok proteinlerinin; iskemi, hipoksi, basınç artması, ağır metaller, serbest oksijen radikalleri, protein kinaz C, kalsiyum ajanının artması, etanol, aminoasid ve glukoz analogları, inflamasyon, sodyum arsenit, hormonlar, antibiyotikler, sitokinler ve enfeksiyonu içeren stresin yoğun olduğu durumlarda yükselmesinin tetiklenebileceği rapor edilmiştir (36- 40). HSP 70, ısı şok proteinleri ailesinin bir üyesidir. Yüksek ısı ve stres altında ekspresyonu artmaktadır (36,37). Hitroya ve ark., bacak amputasyonu yapılan hastalardan elde edilen sinovyal dokulardan yapılan sinovyal fibroblast kültürlerinin 1 saat 42 °C ısı maruziyeti sonrası HSP 70 mRNA'nın 1 saatte en yüksek seviyeye ulaşmış, 24 saat içinde kontrol seviyesine geri

döndüğünü gösterdiler (60). Vance ve ark., tavşan sinovyal fibroblast kültürlerini kullanarak 45 °C 1 saat ısı maruziyeti sonrası, HSP mRNA'nın 1 saat içinde en yüksek seviyeye ulaştığını ve 3 saat içinde kontrol seviyesine geri döndüğünü rapor ettiler (61). İnsanlarda OA'in histolojik derecesi ile HSP 70 oranı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (47,48). Ayrıca HSP 70'in kondrositlerde apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (54,55,56).

OA'de, stresin indüklediği proteinlerin niceliğinin hücrelerde tahribi önlemede yetersiz olduğu görülmüştür. O nedenle eksternal terapötik stres olsun veya olmasın OA'de erken evrelerde kondrositlerde normal stres proteinlerinin uyarılmasına başvurulması ve bu proteinlerin eklem kıkırdağında kötüye gidişi önleyebilmesi ileri ki araştırmalar için bir gerekçe olmuştur. Huang ve ark., 36 sıçanda erken OA oluşturmuş ve iki gruba ayırmıştır. 1. gruba frekansı 1 mHZ, yoğunluğu 2,5/Watt/cm², 4 hafta/3 gün puls ultrason tedavisi, 2. gruba plasebo ultrason yapılmıştır. OA şiddeti teknesyum 99m kemik skan ile, OA'li kıkırdaktan elde edilen protein ekstraktlarından Western blot yöntemi ile ve frozen kesitlerinde immünohistokimyasal boyama ile HSP 72 protein ekspresyonu değerlendirilmiştir. Her grup kendi içinde başlangıç, ultrason sonrası ve takip olmak üzere üçe bölünmüştür. 4. hafta ve 12. haftada US uygulanan grupta OA şiddet indeksi belirgin olarak azalmıştır. US uygulanan sıçanlarda 2 aylık takiplerde histolojik incelemelerde başlangıçtaki fibrilasyon ve kondrositlerdeki genişleme yok olmuştur. US uygulananlarda immünohistokimyasal incelemede HSP 72 boyanan kondrosit yoğunluğu belirgin olarak artmış, takiplerde ise azalmıştır. Total kondrosit sayısı takiplerde belirgin artmıştır. Başlangıç peryodu ile her iki grupta ultrason peryodları karşılaştırıldığında, US ve plasebo grubunun her ikisinde de Western blot yöntemiyle değerlendirilen HSP 72 protein ekspresyonu artmış olarak rapor edilmiştir (62).

Mikrodalga, ultrason gibi fiziksel terapinin bir parçası olarak derin ısıtıcı olarak kullanılmaktadır. Tonomura ve ark., her grupta 4 tavşana sol dizlerine 2.45 GHZ mikrodalga aplikatör ile 20, 40, 60 W ısı stimülasyonu yapılmıştır. Eklem içi ısısının ölçümü için diz içine yerleştirilen dijital termometre kullanılmıştır. Watt yükseldikçe eklem içi ısı derecesi artmıştır. Isı stimülasyonundan 8 saat sonra diz eklemleri çıkarılarak eklem kıkırdağında Western blot ve PCR yöntemleri ile HSP 70 protein seviyesi ve HSP 70 mRNA düzeyleri bakılmıştır. 20W'lık ısı stimülasyonu

ile HSP 70 ekspresyonu kontrollere benzer bulunmuş, 40W'lık ısı stimülasyonundan sonra HSP 70 ekspresyonu belirgin olarak artmıştır. Isı stimülasyonu sonrası proteoglikan ve kollajen tip II mRNA seviyesinde artmıştır. 40W'lık ısı stimülasyonu sonrası 8,24, 48, 72 saat sonra eklem kıkırdağında HSP 70 ekspresyonu bakılmıştır. En yüksek HSP 70 mRNA seviyesi 8. saatte izlenmiş, en yüksek HSP 70 protein ekspresyonu 24. saatte izlenmiştir ve 48 ve 72. saatlerde seviyesi azalmıştır. Bu çalışmada mikrodalga uygulamasının eklem içi ısıyı arttırdığı ve eklem kıkırdağına ulaştığını, ısı stimülasyonunun eklem kıkırdağında proteoglikan ve kollajen tipII mRNA ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir ve HSP 70'in matriks gen ekspresyonunun artmasına kısmen aracılık ettiği öne sürülmüştür (63).

Bizim çalışmamızda; ultrason kullanarak ısı stimülasyonu ile eklemden sinovyal dokuda HSP 70 protein ekspresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Sinovyal dokudan elde edilen protein ekstraktlarından ELISA yöntemiyle değerlendirilen HSP 70 protein ekspresyonu kontrol grubuna göre plasebo grubunda daha yüksek; kontrol- ultrason grubu, ultrason-plasebo grubu arasında fark saptanamamıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, HSP 70 protein değerleri ultrason grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda elektroforezde kullanılan hazır jellerde protein bantları görülemediği için Western blot aşamasına geçilememiştir. Protein bantlarının görülememesinin nedeni olarak; kullanılan hazır jellerde, kullanılan tampon çözeltilerde veya örneklerimizin protein içeriğinde problem olabileceği düşünülmüştür. Huang ve ark.'nın çalışmasında da; Western blot yöntemiyle plasebo ve ultrason grubunda, başlangıç değerlerine göre kondrositlerde HSP 70 protein ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur. Huang ve ark.'nın çalışması hayvan deneyidir, tüm gruplarda erken osteoartrit oluşturulmuş ve HSP 70 başlangıç düzeylerine bakılabilmıştır, uygulanan ultrason süresinde daha uzundur. Bizim çalışmamızda; gruplar, radyolojik evreye göre evre1, 2, 3, 4 osteoartriti bulunanlar, meniskopatili ve anterior krusiyat ligament rüptürü olan bireylerden oluştuğu için nonhomojendir. Ultrason süresi diğer çalışmalara göre daha kısadır. Ameliyat sonrası sinovyal doku alındığı için HSP 70 proteininin başlangıç düzeyleri bilinmemektedir. Diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi HSP 70 protein ekspresyonunun ısı maruziyetinden sonra, pik yapma ve azalma saati vardır ve çalışmalarda tüm örneklerde HSP 70 proteini aynı saatte incelenmiştir. Bizim

çalışmamızda ultrason tedavisinden sonra hastaların ameliyatı alınma zamanları, teknik zorunluluklarından dolayı farklı olduğu için, ısı maruziyetinden sonra HSP 70 proteini bakılma saatleride tüm hastalarda farklıdır.

Çalışmamızda sinovyal dokuda HSP 70 ile yapılan immünohistokimyasal analizde çalışmaya alınan kontrol, plasebo ve ultrason grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon farklılığı izlenmemiştir. Bu durum öncelikle çalışma gruplarında yer alan patolojilerin heterojen nitelikte olması, tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmalı biyopsi örneklerinde HSP 70 ekspresyonu araştırılmamış olması (etik nedenlerle) ile açıklanabilir. Çalışma verilerine göre her ne kadar literatürde yeterli veri olmasa da, ultrason tedavisinin sinovyal dokuda HSP 70 ekspresyonu üzerine etkili olmadığı ve eklem içi ıslığı HSP 70 protein ekspresyonu yapacak kadar arttırmadığı da düşünülebilir. Ultrasonun eklem içi ıslığı ne kadar arttırdığı ile ilgili ileri çalışmalara gereksinim vardır. Suzuki ve ark., temporomandibular eklemden internal bozukluğu bulunan diskektomi veya artroskopik cerrahi uygulanan hastaların 5 disk, 16 sinovyal doku biopsilerini incelemiş ve kondrositlerde ve sinovyal hücrelerde immünohistokimyasal olarak HSP 70 saptanmış, normal olgularda saptanmamıştır (53). Çalışmamızdaki OA'li hastaların sinovyal biyopsilerinde de, farklı yoğunlukta olmak üzere sinovyal doku yüzey epitelinde ve damar endotelinde HSP 70 ekspresyonu izlenmiştir.

SONUÇLAR

1. ELISA ile değerlendirilen HSP 70 ekspresyonunda, kontrol grubu ile plasebo grubu arasındaki farklılık önemli bulunurken; kontrol grubuyla- ultrason grubu; plasebo grubu ve ultrason grubu arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, HSP 70 protein değerleri ultrason grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.
2. İmmünohistokimyasal olarak değerlendirilen HSP 70 ekspresyonu açısından kontrol, plasebo ve ultrason grupları arasında farklılık saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Di Cesare PE, Abramson SB: Pathogenesis of Osteoarthritis. Haris ED, Budd RC, Firestein GS (Ed.): Kelley's Textbook of Rheumatology. Seventh edition, volume II, Saunders Company, Philadelphia, 2005:1493-1507.
2. Buckwalter JA, Martin JA: Osteoarthritis. Adv Drug Deliv Rev 2006 ;58:150-167.
3. Kirazlı Y:Osteoartrit. Gümüşiş G, Doğanavşargil E (Ed) : Klinik Romatoloji. Deniz Matbaası, İstanbul, 1999;531-547.
- 4.Felson DT, Zhang Y: An uptade on the epidemiology of knee and hip osteoarthritis with a viev to prevention. Arthritis Rheum 1998;41(8):1343-1355.
5. Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA : Osteoarthritis: New Insights. Ann Intern Med 2000;133(8):635-646.
6. Haq I, Murphy E, Dacre J : Osteoarthritis. Postgrad Med J 2003;79:377-383.
7. Sowers MF: Epidemiology of risk faktors for osteoarthritis systemic factors. Curr Opin Rheumatol 2001;13(5):447-451.
8. Aksu K: Osteoartrit. Gümüşiş G, Doğanavşargil E (Ed.): Klinik Romatoloji El Kitabı, İzmir Güven Kitabevi, 2003;617-634.
9. Sarıdoğan ME: Osteoartrit. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Romatolojik Hastalıklar Sempozyum Dizisi 2003;34:11-18.
10. Lorenz H, Richter W: Oateoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. Prog Histochem Cytochem 2006;40:135-163.
11. Atay MB: Osteoartrit. Beyazova M, Kutsal YG (Ed.): Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, cilt 2, Güneş Kitabevi, Ankara, 2000;1805-1831.
12. Pelletier JM: Pathophysiology of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 1998;6:374-376.
13. Poole AR: An introduction to the pathophysiology of osteoarthritis. Front Biosci 4,1999;15:662-670.
14. Sandell LJ, Aigner T: Articular cartilage and changes in arthritis an introduction: Cell biology of osteoarthritis. Arthritis Res 2001;3:107-113.

15. Zıgang GE, Yang HU, Heng BC, Yang Z, Lee EH: Osteoarthritis and Therapy. *Arthritis Rheum* 2006;55(3):493-500.
16. Blanco FJ, Guitian R, Martul EV; Toro FJ, Galdo F : Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. *Arthritis Rheum*1998;41(2);284-289
17. Kim HA, Lee YJ, Seong SC, Choe KW, Song YW: Apoptotic chondrocyte death in human articular cartilage. *J Rheumatol* 2000;27:455-462
18. Matsuo M, Nishida K, Yoshida A, Murakami T, Inoue H: expression of Caspase 3 and -9 relevant to cartilage destruction and chondrocyte apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Acta Med Okayama* 2001;55(6):333-340.
19. Lotz M, Hashimoto S, Kühn K: Mechanisms of chondrocyte apoptosis. . *Osteoarthritis Cartilage* 1999;7;389-391.
20. Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H, Lotz M: Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am J Pathol* 1995;146:75-85.
21. Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, Coutts RD, Lotz M: Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41(7):1266-1274.
22. Hayashi T, Abe E, Yamate T, Taguchi y, Jasin HE : Nitric oxide production by süperficial and deep articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*1997;40;261-269 .
23. Pelletier JP, Lascau-Coman V, Jovanovic D, Manning P, Connor JR; Currie MG, Martel-Pelletier J: selective inhibition of inducible nitric oxide Synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo. *Arthritis Rheum* 2000;43(6):1290-1299.
24. Pelletier JP, Fernandes JC, Jovanovic D, Manning P, Connor JR; Currie MG, Martel-Pelletier J: Reduction in the structural changes of experimental osteoarthritis by a nitric oxide inhibitör. *Osteoarthritis Cartilage* 1999;7:416-418.
25. Lee D, Long SA, Adams JL, Chan G, Vaidya KS, Francis TA, Kikly K, Winkler JD: Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptozis and maintain cell functionality. *J Biol Chem* 2000;275(21);16007-16014.

26. David SH: Etiopathogenesis of Osteoarthritis. McCarty DJ (Ed.): Arthritis and Allied Conditions. Eleventh edition, Lea&Febiger, London,1989:1595-1601.
27. Oğuz H: Osteoartroz. Romatizmal Ağrılar. Atlas tıp Kitabevi, Konya, 1992;349-367.
28. Akyüz G, Bulak E: Osteoartritte ağrı nedenleri. Ağrı 2007;19(1);31-35.
29. Kutsal YG; Kara M: Diz Osteoartriti. Sarıdoğan M (Ed): Tanıdan tedaviye Osteoartrit. Nobel tıp kitabevi, 2007;149-161.
30. Kaptanoğlu E, Arman İM: Alt Ekstremitte Ağrıları. Oğuz H, Dursun N, Dursun E (Ed.): Tıbbi Rehabilitasyon. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.,İstanbul, 2004: 1173-1198.
31. Sindel D: Osteoartritte görüntüleme yöntemleri. Sarıdoğan M (Ed): Tanıdan tedaviye Osteoartrit. Nobel tıp kitabevi, 2007;95-109.
32. Şendur ÖF: Osteoartrozda rehabilitatif yaklaşımlar. Kutsal YG (Ed): Modern tıp seminerleri:7 Osteoartroz. Güneş kitabevi, Ankara, 2000;122-131.
33. Akşit R, Öztürk C: Tedavide sıcak ve soğuk. Oğuz H, Dursun N, Dursun E (Ed.): Tıbbi Rehabilitasyon. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.,İstanbul, 2004:333-355.
34. Kalyon TA: Ultrason. Tuna N(Ed.):Elektroterapi.2.baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.,İstanbul, 2001:129-140.
35. Karamehmetoğlu Ş: Derin ısıtıcılar. Sarı H, Tüzün Ş, Akgün K(Ed.): Fiziksel Tıp Yöntemleri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.,İstanbul, 2002:51-60.
36. Rylander MN, Feng Y, Bass J, Diller KR: Thermally Induced Injury Heat-Shock Protein Expression in Cells and Tissues. Ann N Y Acad Sci 2005;1066;222-242.
37. Milani V, Noessner E, Ghose S, Kuppner M, Ahrens B, Scharner A, Gastpar R: Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. Int J Hyperthermia 2002;18(6);563-565.
38. Terzioğlu E: Isı şoku proteinleri. Gümüşdiş G, Doğanavşargil E (Ed.): Klinik Romatoloji. Deniz Matbaası,İstanbul,1999;51-53.

39. Baykal Y, Gök F, Kocabalkan F: Isı şok Proteinleri ve Hastalıklardaki Rolü. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri* 2000;20(3);187-194.
40. Menoret A, Chaillot D, Callahan M, JacQuin C: Hsp 70, an immunological actor playing with the intracellular self under oxidative stress. *Int J Hyperthermia* 2002;18(6);490-505.
41. Repasky E, Issels R: Physiological consequences of hyperthermia: heat, heat shock proteins and the immune response. *Int J Hyperthermia* 2002;18(6);486-489.
42. Ostberg JR, Kaplan KC, Repasky EA: Induction of stress proteins in a panel of mouse tissues by fever-range whole body hyperthermia. *Int J Hyperthermia*, 2002;18(6);552-562.
43. Ellis RJ, Van Der Vies SM. Molecular chaperones. *Ann Rev Biochem* 1991;60:321-347.
44. Nıkfarjam M, Muralıdharan V, Su K: Patterns of heat shock protein (HSP 70) expression and kupffer cell activity following thermal ablation of liver and colorectal liver metastases. *Int J Hyperthermia* 2005;21(4);319-332.
45. Mosser DD, Caron AW., Bourget L, Meriin AB: The chaperone of hsp 70 is required for protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000;20(19);7146-7159.
46. Mosser DD, Caron AW, Bourget L: Role of the human heat shock protein hsp 70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997;17(9);5317-5327.
47. Kubo T, Towle CA, Mankin HJ, Treadwell BV: Stress-induced proteins chondrocytes from patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1985 ; 28(10):1140-1145.
48. Takahashi K, Kubo T, Arai Y, Imanishi J, Kawata M: Localization of heat shock protein in osteoarthritic cartilage. *Scand J Rheumatol* 1997;26(5):368-375.
49. Takahashi K, Kubo T, Goomer RS, Amiel D, Kobayashi K: Analysis of heat shock proteins and cytokines expressed during early stages of osteoarthritis in a mouse model. *Osteoarthritis Cartilage* 1997;5:321-329.
50. Kaarniranta K, Holmberg CI, Lammi J, Eriksson E, Sistonen L: Primary chondrocytes resist hydrostatic pressure-induced stress while primary synovial cells

and fibroblasts showw modified Hsp 70 response. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9:7-13.

51. Nakamura S, Arai Y, Takahishi KA, Terauchi R, Ohashi S: Hydrostatic pressure induces apoptosis of chondrocytes cultured in alginate beads. *J Orthop Res* 2006;24:733-739.

52. Kubo T, Arai Y, Takahishi K, Ikeda T, Ohashi S: expression of transduced HSP 70 gene protects chondrocytes from stres. *J Rheum* 2001,28:330-335.

53. Suzuki T, Segami N, Nishimura M, hattori H, Nojima T: analysis of 70Kd heat shock protein expression in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000;29:301-304.

54. Terauchi R, Takahashi KA, Arai Y, Ikeda T, Ohashi S:Hsp 70 prevents nitric oxide-induced apoptosis in articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2003;48(6):1562-1568.

55. Grossin L, Henrionnet CC, Pinzano A, Gaberot N, Dumas D, Etienne S: Gene transfer with HSP 70 in rat chondrocytes confers cytoprotection in vitro and during experimental osteoarthritis. *FASEB J* 2006;20:65-75.

56. Tiffée JC, Griffin JP, Cooper LF: Immunolocalization of stres proteins and extracellular matrix proteins in the rat tibia. *Tissue Cell* 2000;32(2):141-147.

57. Ye J, Haro H, Takahashi M, Kuroda H: Induction of apoptosis of articular chondrocytes and supression ofarticular cartilage proteoglycan synthesis by heat shock. *J Orthop Sci* 2003;8:387-395.

58. Hojo t, Fujioka M, Otsuka G, Inoue S: Effect of heat stimulation on viability and proteoglycan metabolism of cultured chondrocytes: preliminarary report. *J Orthop Sci* 2003;8:396-399.

59. Huang MH, Dring HJ, Chai CY, Huang YF: Effects of sonication on articular cartilage in experimental osteoarthritis. *J Rheumatol* 1997 ;24(10):1978-1984.

60. Hitraya EG, Varga J, Jimenez SA: Heat shock of human synovial and dermal fibroblasts induces delayed up-regulation of collagenase-gene expression. *Biochem J* 1995 ;308:743-747.

61. Vance BA, Kowalski CG, Brinckerhoff CE: Heat shock of rabbit synovial fibroblasts increases of m RNAs for two metalloproteinases, collagenase and stromelysin. *J Cell Biol* 1989 ;108:2037-2043.
62. Huang MH., Yang RC. Ding HJ: Ultrasound effect on level of stres protein and arthritic histology in experimental arthritis. *Arch Phys Med Rehab* 1999;80;551-556.
63. Tonomura H, Takahashi KA, Mazda O, Arai Y, Honjo K: Effects of heat stimulation via microvave applicator on cartilage matrix gene and HSP 70 expression in the rabbit knee joint. *J Orthop Res* 2008;26;34-41.