

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

**MENİSKÜS YIRTIKLARINDA MUKOİD
DEJENERASYON EVRESİ İLE EKLEM
SIVISINDAKİ BİYOKİMYASAL BELİRTEÇ
DÜZEYLERİ ARASINDA İLİŞKİ VAR
MIDİR?
(KLİNİK ÇALIŞMA)**

DR.OKTAY İŞÇEN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ:

PROF. DR. HALİT PINAR

İZMİR - 2008

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

**MENİSKÜS YIRTIKLARINDA MUKOİD
DEJENERASYON EVRESİ İLE EKLEM
SIVISINDAKİ BİYOKİMYASAL BELİRTEÇ
DÜZEYLERİ ARASINDA İLİŞKİ VAR
MIDİR?
(KLİNİK ÇALIŞMA)**

DR.OKTAY İŞÇEN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR -2008

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	8
2. SUMMARY	10
3. GİRİŞ ve AMAÇ	12
4. GENEL BİLGİLER	14
4.1. Embriyoloji	14
4.2. Menisküs Anatomisi	15
4.3. Menisküs Ultrastrüktürü	16
4.4. Menisküs Fonksiyonları	17
4.5. Menisküs Yapısındaki Proteinler	18
4.6. Biyokimyasal Belirteçler	20
4.6.1. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)	20
4.6.2. Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP)	21
4.6.3 Tissue İnhibitors of Metalloproteinase (TIMP)	22
4.6.4. Proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar	22
4.7. Menisküs Mukoid Dejenerasyonu	24
4.7.1. Menisküs Mukoid Dejenerasyon Radyolojisi	25
4.7.1.1. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) Evre 1.....	25
4.7.1.2. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) Evre 2.....	26
4.7.1.3. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) Evre 3	27
4.7.2. Menisküs Mukoid Dejenerasyon Patolojisi	27
5. HASTALAR VE YÖNTEMLER	29
5.1. Hastaların Klinik Özellikleri	31
5.2. Hastaların Artroskopik Özellikleri	34
5.3. Biyokimya Çalışması	36
5.3.1. Enzim-Bağlı İmmunosorbent Ölçüm	36
5.3.2. COMP ELISA	36
5.3.2.1. Yöntemin Prensipleri.....	36
5.3.2.2. Reaktiflerin Hazırlanması.....	36
5.3.2.3. Yöntemin Prosedürü	37
5.3.3. MMP-3 ELISA	38
5.3.3.1. Yöntemin Prensipleri.....	38

5.3.3.2. Örneklerin Hazırlanması.....	38
5.3.3.3. Reaktiflerin Hazırlanması.....	38
5.3.3.4. Yöntemin Prosedürü.....	39
5.3.4. TİMP 1 ELISA	40
5.3.4.1. Yöntemin Prensibi.....	40
5.3.4.2. Reaktiflerin Hazırlanması.....	41
5.3.4.3. Yöntemin Prosedürü.....	42
5.3.5. Proteoglikan Analiz Yöntemi.....	43
5.3.5.1. Yöntemin Prensibi.....	43
5.3.5.2. Çözeltilerin Hazırlanması.....	43
5.3.5.3. Yöntemin Prosedürü.....	44
5. 4. İstatistik (Çözümleme) Yöntemi	45
6. BULGULAR.....	46
6.1. Patolojik Bulgular	46
6.2. Biyokimyasal Belirteç Düzeyleri.....	47
7. TARTIŞMA.....	58
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
9. KAYNAKLAR.....	66
10. EK-1.....	73

TABLÖLAR ve GRAFİKLER

TABLÖLAR:

Tablo 1: A grubundaki olguların klinik özellikleri

Tablo 2: B grubundaki olguların klinik özellikleri

Tablo 3: Kontrol (C) grubundaki olguların klinik özellikleri

Tablo 4: A grubundaki olguların artroskopik özellikleri

Tablo 5: B grubundaki olguların artroskopik özellikleri

Tablo 6: Standart çözeltinin hazırlanması

Tablo 7: Seyreltmelerin yapılışı

Tablo 8: A grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

Tablo 9: B grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

Tablo 10: C grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

Tablo 11: A ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

Tablo 12: B ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

Tablo 13: A ve B gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

Tablo 14: Menisküs yırtığı olan olgular (A ve B grubu) ve olmayan (C grubu) hastaların, biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

Tablo 15: Travma öyküsü olan menisküs yırtıklı olgular ile C grubu olguların biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

Tablo 16: Travma öyküsü olmayan menisküs yırtıklı olgular ile C grubu olguların biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

GRAFİKLER:

Grafik 1: COMP değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

Grafik 2: MMP-3 değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

Grafik 3: TİMP-1 değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

Grafik 4: Proteoglikan fragmanları değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

ŞEKİLLER ve RESİMLER

ŞEKİLLER:

Şekil 1: Menisküs anatomisi

Şekil 2: Agrekanın yapısı

Şekil 3: Standart çözeltilerin hazırlanması

RESİMLER:

Resim 1: Proton dansite sagittal MRG görüntülerinde, medial menisküs arka boynuzunda evre I menisküs dejenerasyonu

Resim 2: Sagittal planda, proton dansite MR görüntülerinde medial menisküs posterior boynuzunda evre II menisküs dejenerasyonu ile uyumlu sinyal intensite artımı

Resim 3: Sagittal planda, proton dansite görüntülerde medial menisküs posterior boynuzunda, evre III menisküs dejenerasyon ile uyumlu sinyal intensite artımı

Resim 4: Mukoid dejenerasyonlu menisküsün artroskopik görünümü

Resim 5a ve 5b: Fokal mukoid dejenerasyon alanları ve azalmış sayıda kondrosit

Resim 5c ve 5d: Hiposellüler alanlar içerisinde mukoid dejenerasyon bantları

Resim 5e ve 5f: Mukoid dejenerasyon ve fibrokartilajinöz ayrılma

KISALTMALAR:

COMP: Cartilage Oligomeric Matrix Protein

MMP: Matriks metalloproteinazlar

TIMP: Tissue Inhibitors of Metalloproteinases

GAG: Glikozaminoglikan

PG: Proteoglikan

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

ÖÇB: Ön çapraz bağ

İM: İç menisküs

DM: Dış menisküs

MFK: Medial femur kondili

LFK: Lateral femur kondili

MTP: Medial tibia kondili

LTP: Lateral tibia kondili

ng: Nanogram

µg: Mikrogram

mL: Mililitre

MD: Mukoid dejenerasyon

L: Litre

ÖNSÖZ

Eğitimime katkısı olan, asistanlık eğitimim boyunca bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım; **Prof. Dr. Emin ALICI, Prof. Dr. Şükrü ARAÇ, Prof. Dr. Osman KARAOĞLAN, Prof. DR. Ahmet EKİN, Prof. Dr. Hasan HAVITÇIOĞLU, Prof. Dr. Halit PINAR, Prof. Dr. Haluk BERK, Prof. Dr. İzge GÜNAL, Doç. Dr. Önder BARAN, Prof. Dr. Hasan TATARİ, Doç. Dr. Mustafa ÖZKAN, Doç. Dr. Vasfi KARATOSUN, Doç. Dr. Ömer AKÇALI, Doç. Dr. Can KOŞAY, Doç. Dr. Kadir BACAĞOĞLU**' na teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında değerli bilgi ve deneyimleriyle bana her konuda yardımcı olan tez danışmanım **Prof. Dr. Halit PINAR**, olgu konusunda yardımlarını esirgemeyen **Prof. Dr. Osman KARAOĞLAN** ve **Prof. Dr. Hasan TATARİ**' ye teşekkür ederim.

Tezimin biyokimya testlerinde teknik destek ve bilgilerini esirgemeyen, değerli zamanlarını ayıran DEÜTF Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Görevlilerinden **Prof. Dr. Gülgün OKTAY**, Araştırma Görevlilerinden **Diğdem KELEŞ**'e teşekkür ederim.

Tezimin patoloji bakısında teknik destek ve bilgilerini esirgemeyen, değerli zamanlarını ayıran DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlilerinden **Doç. Dr. Sermin ÖZKAN**'a teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında bana yol gösteren DEÜTF Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Doç. Dr. Türkan GÜNAY**'a ayrıca teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca kliniğimiz ve ameliyathanede beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire arkadaşlarıma, personel arkadaşlarıma, klinik ve poliklinik sekreterlerimize teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu zor ve uzun geçen asistanlık süreci boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama ve eşime ayrı ayrı teşekkür ederim.

1. ÖZET

Menisküs yırtıklarında mukoid dejenerasyon evresi ile eklem sıvısındaki biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında ilişki var mıdır?

Dr. Oktay İşçen

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

İnciraltı –İZMİR

GİRİŞ VE AMAÇ:

Çalışmamızın amacı, histopatolojik olarak mukoid dejenerasyonu kanıtlanmış menisküs yırtıklarındaki biyokimyasal ortamı analiz ederek mukoid dejenerasyon ile diz eklemi sıvısındaki biyokimyasal ortamın ilişkisini araştırmaktır. Hipotezimiz şudur: mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklarında sinovyal sıvı biyokimyasal belirteç konsantrasyonları daha yüksektir.

HASTALAR VE YÖNTEMLER:

İzole menisküs yırtığı düşülen olgularda artroskopi öncesi, diz eklemi sinovyal sıvı ponksiyonu yapıldı. Gerekli görülen olgularda, artroskopik menisküs eksizyonu yapıldı ve menisküs örnekleri patoloji laboratuvarına gönderildi. Copenhaver evrelemesine göre evre 1 ve evre 2 mukoid dejenerasyonlu olgular A grubunu (n= 13), Evre 3 mukoid dejenerasyonlu olgular B grubunu (n=19) oluşturdu. Kontrol grubunu (C grubu, n= 9), başka bir nedenle artroskopi uygulanan olguların, travma hikayesi ve yakınması olmayan dizlerinden alınan sinovyal sıvı örnekleri oluşturdu. Elde olunan sinovyal sıvı örnekleri biyokimya laboratuvarında değerlendirildi. Sinovyal sıvıda MMP- 3 (Matrix metalloproteinase- 3), COMP (Cartilage oligomeric matrix protein), TIMP- 1(Tissue inhibitor matrix metalloproteinase) ve proteoglikan fragmanları düzeylerine bakıldı. Bulgular, non- parametrik test Mann-Whitney U Testi kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR:

Çalışmamızda Evre 3 mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklı olgularda (Grup B), Evre 1- 2 mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklı olgulara (Grup A) göre sinovyal sıvı proteoglikan fragmanları düzeylerinde anlamlı yükseklik saptandı ($p=0.044$). A ve B grubu arasında MMP- 3, TIMP- 1 ve COMP düzeyleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi. B grubu ile C grubu (kontrol grubu) karşılaştırıldığında, sinovyal sıvı biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak proteoglikan fragman düzeyleri için p değeri anlamlılığın sınırında idi ($p=0.055$). A grubu ile C grubu (kontrol grubu) karşılaştırıldığında, sinovyal sıvı biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Travma öyküsü olmayan menisküs yırtıklı olgulara göre, travma öyküsü olan menisküs yırtıklı olguların sinovyal sıvısında MMP- 3 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.025$). A ve B grubunda MMP- 3 ve TIMP- 1 düzeyleri arasında çok güçlü pozitif korelasyon olduğu görüldü.

SONUÇ:

Çalışmamızda ileri evre mukoid dejenerasyon evresi ile sinovyal sıvı proteoglikan fragman konsantrasyonunun ilişkili olduğunu bulduk. Artmış proteoglikan fragmanları mukoid dejenerasyonun nedeni veya sonucu olabilir. Menisküs mukoid dejenerasyonunun, dizin genelinde bir dejeneratif süreç ile ilişkili olduğu öne sürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal belirteçler, sinovyal sıvı, menisküs mukoid dejenerasyonu, menisküs yırtığı

2. SUMMARY:

Are there any relationship between the grade of mucoid degeneration and biochemical marker levels in synovial fluid at meniscal tears?

Dr. Oktay İşçen
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı
İnciraltı –İZMİR

INTRODUCTION:

The purpose of this study; to examine the relationship between mucoid degeneration and biochemical environment in the synovial fluid with biochemical analysis at meniscal tears which have mucoid degeneration confirmed histopathologically. Our hypothesis is, in mucoid degenerated meniscal tears, synovial fluid biochemical marker concentrations are higher.

PATIENTS and METHODS:

Synovial fluids were aspirated from cases who have isolated meniscal tears before arthroscopy. If needed, arthroscopic partial menisectomy were done and the samples sent to pathology department. According to Copenhagen grading system, grade 1 and 2 cases produce group A (n=13) and grade 3 cases produce groupB (n=19). The control group (group C, n= 9) was made by the other nontraumatic and asymptomatic knees of the patients. The synovial fluid samples examined at the biochemistry laboratory. MMP-3 (matrix metalloproteinase-3), TIMP-1 (tissue inhibitor matrix metalloproteinase-1), COMP (cartilage oligomeric matrix protein) and proteoglycan fragment levels were examined. The results are statistically analysed with non-parametric Mann Whitney U test.

RESULTS:

Synovial fluid proteoglycan fragment levels are significantly higher in grade 3 mucoïd degenerated meniscal tear group (group B) than grade 1 and 2 mucoïd degenerated meniscal tear group (group A) ($p=0.044$). There were no significant difference between group A and B for MMP-3, TIMP-1 and COMP levels. Between group B and C (control group), there were no significant difference for biochemical marker levels but for the proteoglycan fragment levels, p value is at the level of significance ($p=0.055$). Between group A and C (control group), there were no significant difference for biochemical marker levels. At traumatic meniscal tear cases the MMP-3 levels are significantly higher than atraumatic meniscal tear cases ($p=0.025$). At group A and B, there were high positive correlation between MMP-3 and TIMP-1 levels.

DISCUSSION:

In our study, relationship found between high grade mucoïd degeneration and synovial fluid fragment concentration. High levels of proteoglycan fragments are either the cause or the result of mucoïd degeneration. Meniscal mucoïd degeneration may associate with the generalized knee degeneration.

Key words: biochemical markers, synovial fluid, meniscal mucoïd degeneration, meniscal tear

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Kıkırdak matriks metabolizması ile ilişkili eklem kıkırdağı matriks makromolekülleri ve proteazları sürekli olarak sinovyal sıvıya salınmaktadır. Lohmander ve arkadaşları diz travması geçiren hastalarda, travma sonrası erken ve geç dönemde, proteoglikan fragmanları, COMP (cartilage oligomeric matrix protein) ve TIMP- 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase -1) konsantrasyonlarının diz eklem sıvısında arttığını tanımlamışlardır (1-5). Bu çalışmalarda, kıkırdak matriks molekül ve proteaz konsantrasyonlarının eklem patolojisi ile korele olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, sinovyal sıvıdaki matriks moleküllerinin kıkırdak metabolizmasındaki değişiklikler için belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Menisküs yırtıkları ve ön çapraz bağ (ÖÇB) lezyonları diz eklemine en önemli yaralanmalardır. Bu yaralanmalar artmış posttravmatik osteoartrit riski taşımaktadır (6). Pekçok çalışmada travma sonrası, menisküs ve ön çapraz bağ lezyonu olan hastalarda, diz eklemi sinovyal sıvısındaki kıkırdak matriks metabolizması biyokimyasal belirteç konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiştir (1-5, 7 -10).

Menetrey ve arkadaşları (11), ön çapraz bağ greflerinin yetersizlikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, operasyon sonrası artmış kıkırdak matriks metabolizması biyokimyasal belirteçlerinin greftin biyolojik yetersizliğine neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. MMP- 3, (Matriks metalloproteinaz- 3), TIMP- 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase -1), IL- 6 (interlökin- 6) ve IL-8 (interlökin- 8), TNF-alfa (Tümör Nekroz Faktör-alfa), IL-1 (interlökin- 1) travma sonrası olduğu gibi, ÖÇB rekonstrüksiyonu sonrası da artmaktadır. Bu değişikliklerin yeni olan greft için uygunsuz ortam oluşturarak, greftte genişlemiş nekroz, mikroid dejenerasyon ve karmaşık neovaskülarizasyon süreci ile sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir. Tüm bu değişikliklerin greft yetmezliğinden sorumlu olabileceğini düşünmüşlerdir (11).

Belirgin travma öyküsü olmaksızın yırtılmış menisküslerde mukoid (mikroid) dejenerasyon saptanması dikkat çekici bir bulgudur. Menisküs mukoid dejenerasyonu, interstisyel dokuda proteoglikanların aşırı birikimi ile karakterizedir. Etiyolojisi belli değildir. Genç yaşta bile menisküs kaybına neden olabildiği için önemli bir menisküs patolojisidir.

Bizim çalışmamızın amacı ileri evre mukoid dejenerasyon zemininde gelişen menisküs yırtıklarında sinovyal sıvıdaki kıkırdak matriks metabolizmasının biyokimyasal belirteç konsantrasyonlarının, mukoid dejenerasyon göstermeyen veya hafif mukoid dejenerasyon zemininde gelişmiş menisküs yırtıklarına göre anlamlı farklılık gösterip göstermediğini araştırmaktadır. Çalışmamızın hipotezi şudur: Normal veya normale yakın yapıdaki

menisküslerle karşılaştırıldığında, belirgin mukoid dejenerasyon gösteren menisküs yırtıklarında sinovyal sıvıdaki biyokimyasal belirteçlerin konsantrasyonları daha yüksektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. EMBRİYOLOJİ

Alt ekstremitte tomurcuğu ilk olarak gestasyonun 4. haftasında görünür. 6.haftada femur, tibia ve fibula kıkırdak yapıya sahip olmaya başlar. Bu dönemde diz eklemi blastomal hücre kitlesi halindedir. Menisküsler, ancak ovulasyondan 7.5 hafta sonra tespit edilebilirler. 8. hafta embriyonik dönemin sonudur ve menisküsler açıkça görülebilirler (12, 13).

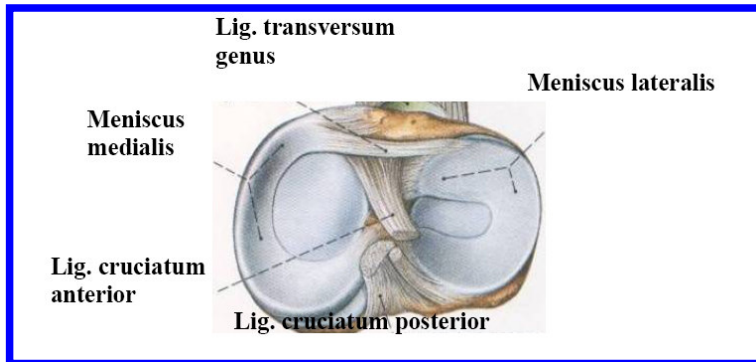
İnsan embriyosundaki alt ekstremitte blastomu başlangıçta devamlı bir yapı oluşturur. Ekstremitte bölümlerini birbirinden ayıran eklem boşluğu yoktur. Mezenkimal model kıkırdaklaşmaya başlayınca muhtemel diz eklemi bölgesinde ara bölgeyi oluşturmak için değişiklikler meydana gelir. Burada iki paralel kondrojenik tabaka ve bir ara tabaka olacak şekilde üç tabaka vardır. Eklem içindeki yapılar (menisküsler ve çapraz bağlar) bu ara tabaka içinde daha fazla yoğunlaşırlar (12, 13). Dizde meniskoligamentöz kompleksin oluşumu embriyonun 8. haftasında olur. Her iki menisküs prenatal gelişim süresince karakteristik şekillerini kazanırlar. Bu dönemde hücre sayıları oldukça fazladır. Bunlar menisküsün 1/3 periferinde fazladır. Fetal menisküsün tüm yapısı boyunca damarlar tespit edilebilir. Doğumda menisküs gelişiminde farklılık gözlenmez. Daha sonra postnatal değişiklikler başlar. Temel postnatal değişiklikler; vaskülaritede belirgin azalma, femoral ve tibial epifiz genişlemesiyle orantılı büyüme, büyüme sırasında menisküslerin tibiofemoral değişimlere uyum sağlamasıdır. Bu değişikliklerle birlikte menisküsün hücre içeriği azalır, kollajen içeriği artar. Kan damarları menisküs periferal bölümlerine lokalize olur. Dış menisküs daha çok gelişimsel farklılık gösterme eğilimindedir. Histolojik yapıları yük taşıma fonksiyonuna paralel olarak adapte olur. Kollajen liflerinin çoğu dairesel olarak dizilirken bir kısmı radial yönde uzanır. Radial liflerin küçük bir kısmı yönlerini değiştirir ve vertikal olarak menisküs yapısı boyunca uzanır (12, 14, 15).

Bu yapısal şekillenme erken postnatal dönem ile 3 yaş arasında izlenir. Menisküs yapısındaki kollajen liflerin yerleşimi postnatal iskelet gelişimi boyunca yüklenme stresleri ile ilişkili olarak devam eder (12).

4.2. MENİSKÜS ANATOMİSİ

Menisküsler, iki adet yarım ay şeklinde fibröz kıkırdaktan yapılmış oluşumlar olup, birbirine uymayan eklem yüzlerinin uymasını, böylece hareketin daha düzenli bir şekilde yapılmasını sağlar. Menisküslerin kalın ve konveks olan periferik kısımları fibröz kapsülle kaynaşmış olup, kapsülden gelen bir kısım kılcal damarlar içerir. Diğer kısımlarında damar bulunmaz. Serbest olan iç kenarı ince ve konkavdır. Üst yüzeyleri konkavdır ve buraya femur kondilleri oturur. Alt yüzleri ise düz olup tibia kondillerinin eklem yüzüne oturur ve 2/3' lük kısmını kaplar. Menisküsler ön ve arka uçlarıyla tibiaya, kalın olan periferik kısımlarıyla da eklem kapsülüne tutunmalarına rağmen, eklem hareketi esnasında bir miktar yerlerini değiştirerek uygun eklem yüzleri oluştururlar. Ön uçlarını lig.transversum genus birleştirir.

Lateral menisküs, medial menisküse oranla ağzı daha kapalı C harfi şeklinde olup, tibiada iç menisküse oranla daha fazla yer kaplar. Dış- iç kenarları arasındaki genişlik hemen hemen her yerinde aynıdır. Ön ucu area intercondylaris anteriora, ön çapraz bağ tutunma yerinin dış- arka kısmına tutunur. Arka ucu area intercondylaris posteriorun ön bölümüne, arka çapraz bağ ve medial menisküsün arka ucu da, bu bağın arka kısmına tutunur. Lateral menisküsün arka dış kısmındaki olukta, popliteus kasının tendonu bulunur ve en iç tarafta birbirleriyle kaynaşırlar. Lateral menisküsün arka ucundan medial femoral kondil dış yüzüne uzanan iki grup lif demeti bulunur. Bunlardan birisi lig. meniscofemorale posterius (Wrisberg bağı) adını alır. Diğeri arka çapraz bağ önünde seyreder ve lig. meniscofemorale anterius (Humphry bağı) adını alır. Lateral menisküsün arka ucu ile ilişkili olan bu bağlar ve popliteus tendonu, dış menisküs arka boynuzunun hareketini kontrol eder (Şekil 1).



Şekil 1. Menisküs anatomisi

Medial menisküsün lateraldekine oranla ağzı daha açıktır. Bu nedenle yarımay şeklindedir. Arka bölümü ön bölümünden daha geniştir. Ön ucu ön çapraz bağın ön tarafına tutunur ve ön ucun arka kısım lifleri lig. transversum genus olarak uzanır ve lateral menisküsün ön tarafına tutunur. Arka ucun area interkondilaris posteriora arka çapraz bağ ile lateral menisküsün arka ucu arasındaki sahaya tutunur. Periferik kısmı fibröz kapsül ve medial kollateral bağın derin lifleri ile ilişkilidir. Bu nedenle iç menisküs dışı oranla daha az hareketlidir (15).

Menisküslerin beslenmeleri özellik gösterir. Medial ve lateral geniküler arterlerin superior ve inferior dallarınca beslenirler. Meniskosinovyal bileşkedeki giren damarlar “perimeniskal kapiller pleksus” u oluştururlar. Bu pleksus, menisküsün %25- 33’ lük çevresel kısmını besler. Laser Doppler Flowmetry ile yapılan çalışmalarda her iki boynuzda yoğun kanlanma varken, orta bölümde kanlanmanın alt yüzde toplandığı saptanmıştır (16, 17) .

Menisküslerin innervasyon özelliklerini araştıran çalışmalar, proprioseptif reseptörlerin varlığını göstermektedir. Bu nedenle menisküsler eklemi aşırı zorlanmalardan koruyan bir proprioseptif duyu organı olarak da görev yapmaktadır (17).

4.3. MENİSKÜS ULTRASTRÜKTÜRÜ

Menisküsler hücreler ve ekstrasellüler matriksten oluşan fibrokartilajinöz yapılardır. Az sayıda hücre içermekte olup menisküslerin temel hücresi fibrokondrosittir. Fibrokondrositler hem fibroblast hem de kondrosit özelliklerine sahiptir. Bu hücreler, özellikle kollajen olmak üzere, ekstrasellüler matriksin yapımı ve devamından sorumludur. Fuziform ve oval olmak üzere iki farklı morfolojik tipte hücre vardır. Fuziform hücreler esas olarak yüzeysel zonda bulunur. Oval hücreler ise daha derin zonlara yerleşmişlerdir.

Ekstrasellüler matriks primer olarak kollajen liflerden oluşur. Ayrıca proteoglikanlar, glikoproteinler ve elastin bulunur. Menisküs yapısının % 70’ ini su oluşturur. Menisküs kuru ağırlığının % 75’ i kollajendir (18-22). Total kollajen yoğunluğunun yaklaşık % 90’ ı Tip I kollajendir. Tip II, III, V ve VI kollajen de menisküs içinde belirlenmiştir (23). Menisküste Tip I kollajenin dominant olması, hyalen kıkırdak ile arasındaki önemli farklılıklardan biridir. Hyalen kıkırdakta Tip II kollajen ağırlıklıdır.

Proteoglikanlar, ekstrasellüler matriksin önemli bir komponentini oluşturur. Su çekici özelliğindedir.

Menisküslerin ultrastrüktürel yapısının incelendiği çalışmalarda, kollajen liflerinin çoğunluğunun anteroposterior eğrilik boyunca seyreden horizontal (sirkumferensiyal) liflerden oluştuğu tanımlanmıştır. Bu lifler ön ve arka boynuzlar arasında oluşacak gerilme kuvvetlerine karşı direnci sağlarlar. Daha az miktarda bulunan radial lifler iç ve dış kenara, vertikal ve oblik lifler de üst ve alt yüzeye doğru uzanırlar. Yüklenme sırasında menisküsü birarada tutan bu radial liflerdir. Menisküsteki kollajen liflerin düzeni vertikal kompresif güçleri dairesel streslere dönüştürmek için idealdir. Radial yerleşen lifler hasar görürse longitudinal yırtık, dairesel lifler hasar görürse radial yırtık oluşur. Vertikal liflerin azlığı horizontal klivaj yırtıklarının oluşumunun nedenini açıklar. Önce bu az sayıdaki lif travma veya dejenerasyonla hasar görür, daha sonra menisküste horizontal ayrılma meydana gelir (14). Menisküsün alt ve üst bölümleri, menisküsün 2/3' ünü kateden ve "orta perforan lifler" adı verilen horizontal dizilimli liflerin toplanmasıyla oluşan bir tabaka tarafından iki bölüme ayrılmıştır (24, 25).

4.4. MENİSKÜS FONKSİYONLARI:

Bir dönemde faydasız organ kalıntısı olarak düşünülen menisküslerin, zamanla çok önemli işlevleri olduğu belirlenmiştir.

Menisküslerin özellikle 1/3 periferik bölümlerinin yük taşıma ve aktarımında önemli görevleri vardır. Dize binen kompresif yüklenmelerin ekstansiyonda % 50' si, 90 derece fleksiyonda % 85' i menisküsler aracılığı ile aktarılır. Menisküslerin periferik sirkumferensiyal lifleri intakt olduğu sürece "Hoop Stress" özelliği korunur ve aksiyel yükler bu dairesel kollajen lifler aracılığı ile ön arka boynuzlar arasında taşınır (26).

Menisküsler birbirleri ile uyumsuz olan femur kondilleri ile tibia platosu arasındaki boşluğu doldurarak uyumu sağlarlar. Özellikle santral bölüm temas yüzeyini arttırarak, eklemi çaprazlayan yükleri dağıtıp, temas basıncı azaltır. Ekstansiyonda tibia, menisküs ve femur arasındaki temas alanı maksimumdur. Fleksiyonda ise temas yüzeyi azalır. Menisektomili dizlerde, temas alanı medial kompartmanda % 50- 70, dizin genelinde yaklaşık olarak % 50 azalmıştır (26). Ayrıca parsiel menisektomi sonuçları temas basıncının arttığını göstermiştir. Menisküslerin % 15- 30' unun çıkarılması ile temas basıncının % 350 arttığı belirlenmiştir. Normal dizlerde şok absorpsiyon oranı menisektomili dizlere göre daha fazladır. Bu sonuçlar parsiyel menisektominin masum bir girişim olmadığına ifadesidir (26).

4.5. MENİSKÜS YAPISINDAKİ PROTEİNLER

İnsan menisküsü fibrokondrositler ve ekstrasellüler matriksten oluşur. Matriks ise esas olarak kollajen lifleri ve proteoglikanlardan (PG) meydana gelir (22). Matriks içinde lipid debris ve kalsifiye cisimler de bulunur. Kalsifiye cisimler fosfor, kalsiyum ve magnezyumdan oluşmuş uzun silindirik kristallerdir.

Ekstrasellüler matriksi oluşturan makromoleküller 3 gruba ayrılır (22).

- 1- Kollajen ve elastin
- 2- Proteoglikanlar
- 3- Matriks glikoproteinleri

Proteoglikanlar kovalan bağlı glikozaminoglikanlar (GAG) taşıyan proteinlerdir. Proteoglikanlarda mevcut olan GAG' lar polianyonik yapıdadır ve bu nedenle Na ve K gibi katyonları ve polikasyonları bağlarlar. Bu şekilde, osmotik basınç aracılığı ile ekstrasellüler matrikse suyun çekilmesine neden olurlar.

Eklem kıkırdağında bulunan GAG' lar; kondroitin sülfat, keratan sülfat ve hialuronik asittir.

Menisküs yapısındaki glikozaminoglikanlar ve oranları:

Kondroitin 6-sülfat	%40
Kondroitin 4-sülfat	%10- 20
Dermatan sülfat	%20- 30
Keratan sülfat	%15

Agrekanlar (proteoglikan monomer) çekirdek protein ve çekirdek proteine kovalent bağ ile bağlı glikozaminoglikan (GAG) zincirlerinden oluşan proteoglikanlardır. Yüzlerce monomer özelleşmiş bağ proteinleri ile hialuronik asit iskelete bağlanarak 200 milyon Da ağırlığında dev bir molekül oluşturur. Yan zincirleri oluşturan negatif yüklü GAG' lar doku içerisinde osmotik bir şişme basıncı oluştururlar. Bu basınç, yüklenme altındaki kıkırdağın mekanik dayanıklılığını sağlar. Negatif yüklü agrekan moleküllerinin sıkışması sonucu oluşan itici güçler, matriksin sertleşmesine neden olur. Bu mekanizma sayesinde, yükün kalkması durumunda kıkırdağın matriksi tekrar eski halini alır (27).

Adheziv glikoproteinler moleküller arası adhezyonu sağlarlar. Bu nedenle ekstrasellüler moleküllerin organizasyonunda önemli rol oynarlar. Üç adheziv glikoprotein tespit edilmiştir: Tip VI kollajen, fibronektin, trombospondin. Bunlar hem hasarlı menisküs tamirinde, hem de normalde hücrelerle ekstrasellüler matriksin etkileşiminde önemli rol oynarlar (19).

4.6. BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

Metabolik olarak aktif olan kondrositler, ortamdaki hormonlara, sitokinlere, çeşitli farmakolojik ajanlara ve mekanik uyarılara duyarlı olup bu özellikleriyle ekstrasellüler matriks yapım ve yıkımından sorumludur. Biyokimyasal ve genetik faktörlerle birlikte, mekanik stres, kondrosit- matriks ilişkisinin bozulmasına ve kıkırdak lezyonlarının oluşmasına zemin hazırlamaktadır (28, 29).

4.6.1. Matriks metalloproteinazlar (MMP):

Fizyolojik koşullarda kollajen turnover' ı oldukça yavaş olup yıkımdan sorumlu enzimler matriks metalloproteinazlardır (MMP).

Matriks metalloproteinazlar bazal membran ve ekstrasellüler matriksin birçok komponentini yıkabilme kapasitesindedir. Bu enzimler, aktif hale gelmeleri için Cu ve Zn iyonlarına gereksinim duyarlar. Türlerine göre endotel hücreleri, makrofajlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitelium hücreleri, mezenkimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, sinovyal hücreler ve osteoblastlar gibi farklı hücre tipleri tarafından eksprese edilirler (30-32). Günümüzde 27 farklı MMP olduğu bilinmektedir. Ancak kıkırdak için önem taşıyan MMP' lar MMP- 1, MMP- 3, MMP- 8 ve MMP- 13' tür. Domuz menisküsleri ile yapılan bir çalışmada (33), menisküs dış tabakasında yüksek düzeyde MMP- 2, MMP- 3, MMP- 1, MMP- 13 ve inhibiörleri olan TIMP- 1 ve TIMP- 2 mRNA ekspresyonu gösterilmiştir. Ishigiro ve arkadaşlarının çalışmasında (34), yırtık ön çapraz bağ tarafından MMP- 1, MMP- 2, MMP- 3 ve TIMP- 1, TIMP-2 üretildiği gösterilmiştir.

MMP' lar etkilerini, kollajen sarmal yapısını bozarak ve agrekanın yapısındaki çekirdek proteinini yıkarak gösterirler. Fizyolojik koşullarda enzimlerin yıkıcı etkileri doku metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) adı verilen moleküllerle baskı altında tutulur. Bu

inhibitör moleküller, enzim- inhibitör kompleksleri oluşturarak enzimleri etkisiz hale getirirler (29, 35, 36).

Substrat özgülüğüne göre MMP' ler gruplara ayrılabilir (37, 38). **Grup 1**, interstisyel kollajenaz (MMP- 1), nötrofil kollajenaz (MMP- 8) ve kollajenaz- 3 (MMP-13)' ü içerir ve Tip I, Tip II ve Tip III kollajeni yıkar. **Grup 2** sırasıyla 72 kDa ve 92 kDa gelatinazlar olan MMP -2 ve MMP-9' dan oluşur. **Grup 3** stromelysin- 1 (MMP- 3) ve stromelysin- 2 (MMP- 10)' den oluşmaktadır. **Grup 4** membran-tip matriks metalloproteinazlardan oluşur (38, 39).

MMP' lar latent pro-formda sentezlenirler. Aktif hale gelmeleri ekstrasellüler alanda, N- terminal propeptid yan zincirinin ayrılması ile olur (40).

Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile doku inhibitörleri (TIMP) arasında sürekli bir denge söz konusudur. MMP' ler ve TIMP' ler normal dokularda düşük düzeylerde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemik remodeling' i, yara iyileşmesi, angiogenez, inflamasyon, apoptozis, immun yanıt gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenez, sinir hücre gelişimi, ovulasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterin involüsyon yer almaktadır (30).

MMP ve TIMP dengesinin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkımına ve sonuç olarak patolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar (30).

MMP- 3 (stromelysin-1)' ün, kıkırdak yıkımından sorumlu anahtar enzim olduğuna inanılmaktadır (31). Ekstrasellüler matriksin, çoğu komponentini yıkabilme kapasitesine sahiptir. Bu komponentler; kıkırdak agrekanları, tip II, IX ve XI kollajen (34), laminin ve fibronektindir. Ayrıca, interstisyel prokollajenaz (proMMP- 1) ve projelatinaz B (proMMP- 9)' yi aktive eder (41, 42). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar, MMP- 3 düzeyi ile kıkırdak matriksi yıkımı arasında korelasyon olduğunu göstermiştir (43). Yoshihara ve arkadaşları, sinovyal sıvıdaki MMP- 3 konsantrasyonunun romatoid artritli hastalarda, osteoartritli hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (44). Bu durum, sinovit progresyon derecesi ile kıkırdak yıkım derecesinin ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Higuchi ve arkadaşları, ön çapraz bağ yaralanmalarında, sinovyal sıvıdaki MMP- 3 konsantrasyonunun arttığını göstermişlerdir (7). Lohmander ve arkadaşları, diz osteoartrit progresyonu ile sinovyal sıvıda MMP- 3 konsantrasyonunun arttığını bulmuşlardır. Bunun sonucunda MMP- 3' ün kıkırdak yıkımının belirteci olduğunu öne sürmüşlerdir (2).

4.6.2. COMP (Cartilage Oligomeric Matrix Protein):

Çoğu nonkollajenöz matriks proteininin kesin fizyolojik rolü bilinmemektedir. Konnektif dokuda hücre- hücre, hücre- matriks, matriks- matriks etkileşiminde dolaylı fonksiyonları vardır. Ayrıca kollajen fibril büyümesini regüle ederler (45, 46). Kıkırdak oligomerik matriks proteini (COMP), ilk kez eklem ve menisküs kıkırdağında Fife tarafından tanımlanan, pentamerik nonkollajenöz glikoproteindir (47-49) . Ek olarak nazal ve trakeal kıkırdağta (49,50), göz vitreus cisminde (51) ve sığır tendonunda (52) saptanmıştır. Ayrıca insanlarda, fetal ve erişkin kondrositler, fetal tendon ve ligaman fibroblastları ve sinovyal fibroblastlar tarafından sentezlenmektedir (53,54). DiCesaire ve arkadaşları, COMP'un eklem kıkırdağı ve menisküsler tarafından sentezlendiğini (52), ayrıca, sinovyal hücreler tarafından eksprese edildiğini göstermişlerdir (55).

COMP yapısal olarak trombospondin ile benzerlik gösterir. EDTA içeren tampon kullanarak, selektif ekstraksiyon ile insan eklem kıkırdağından (56), ayrıca sığır eklem kıkırdağından ve rat kondrosarkomundan (57) purifiye edilmiştir (49).

Topografik lokalizasyon çalışmaları COMP'un göz vitreus cismi ve eklem kıkırdağındaki Tip II kollajen (58), tendondaki (52) Tip I kollajen ile etkileştiği gösterilmiştir. Yapılan kıkırdak immunohistokimyasal boyamalarda, bu proteinin öncelikle kondrositleri çevreleyen matriks içinde lokalize olduğunu ortaya çıkarmıştır (49,50,59) . Eklem kıkırdağı ile yapılan kısa süreli organ kültür çalışmalarında, COMP'un kondrositler tarafından sentezlendiği ve 48- 72 saatlik kısa yarılanma ömrü olduğu bulunmuştur (39). COMP kollajenle etkileşir ve fibrillerin bir araya gelmesinde etkilidir. Böylece matür kollajen ağının oluşmasında önemli role sahiptir (60,61).

COMP, büyüme plağı proliferatif alanında gözlenmiştir. Matür kıkırdakta ise primer olarak intrateritorial lokalizasyonda ve yüzeysel tabakada yer almaktadır (62). Psödokondroplazi ve multipl epifizyal displazilerde, COMP' un kalsiyum bağlayıcı bölgesinde mutasyon tanımlanmıştır (63).

Hızlı ilerleyici eklem yıkımı olan romatoid artritli hastaların serumlarında COMP' un yükseldiği gösterilmiştir (49,64). Daha benign seyirli romatoid artritlerde, serumdaki COMP düzeylerin normal olduğu tanımlanmıştır (49,64,65). Diz yaralanmaları sonrası ve osteoartritin erken dönemlerinde, sinovyal sıvıda COMP' un arttığı bulunmuştur (5,49). Uzun süreli reaktif artritlerde COMP konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (49,65).

COMP' un geniş dağılımı, kaynaklandığı dokuyu bulmayı imkansız kılmaktadır. Ayrıca artmış COMP düzeyinin, yeni sentezlenmiş ve ortama salınmış COMP' a mı? yoksa doku dejenerasyonu sonucu var olan ve ortama salınan COMP' a mı? bağlı olduğunu tahmin etmeyi zorlaştırmaktadır (49).

4.6.3. TIMP (Tissue Inhibitors of Metalloproteinase):

TIMP' ler bağ doku metabolizmasının düzenlenmesinde önemli proteinlerdir (30). Pekçok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. Vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, kondrositler, sinovyal doku hücreleri tarafından sentez edilirler (40,53). MMP' lara irreversible ve non- kovalan bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik sürecin sürdürülmesini inhibe ederler. Böylece TIMP' ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/ TIMP dengesini kontrol altında tutarlar (66,39). Fibroblastlar tarafından sentezlenen dört farklı TIMP tanımlanmıştır (39): TIMP- 1(28 kDa), TIMP- 2 (21 kDa), TIMP- 3 (23 kDa) ve TIMP- 4(24 kDa) (7, 53). TIMP- 1, TIMP- 2, TIMP- 3 çözünebilir proteinler iken, TIMP- 4 ekstrasellüler matrikse sıkı şekilde bağlı halde bulunmaktadır (66).

MMP ve TIMP dengesinin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkımına yol açmaktadır (30).

Lohmander ve arkadaşları, diz yaralanması sonrası, posttravmatik osteoartrit, primer osteoartrit ve akut pirofosfat artritinde, diz eklemi sinovyal sıvısındaki MMP-3 ve TIMP- 1 konsantrasyonunun yükseldiğini göstermişlerdir (2).

4.6.4. Proteoglikanlar ve Glikozaminoglikanlar

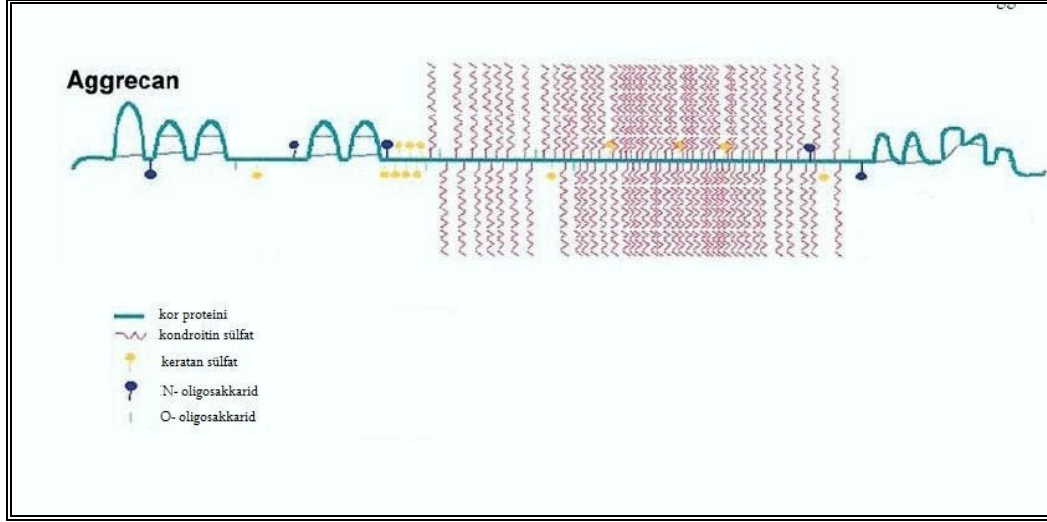
Bağ dokunun fiziksel ve kimyasal özellikleri kollajen liflerinin dağılımı ve kimyasal kompozisyonu yanı sıra ara maddenin yapısına bağlıdır. Proteoglikanlar, fibroblast ve benzeri hücrelerde sentez edilirler. Polimerizasyon ve sülfatlanma Golgi kompleksinde meydana gelir. Ardından proteoglikan içeren granüller oluşur ve ekzositoz ile hücreden atılır.

Proteoglikanlar kovalan bağlı glikozaminoglikanlar (GAG) taşıyan proteinlerdir. GAG' lara kovalan bağlı proteinlere çekirdek proteinleri denilir. En az 7 GAG mevcuttur. Bunlar hiyaluronik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfatlar I ve II, heparin, heparan sülfat, dermatan sülfattır. Bir GAG tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşmuş dallı olmayan bir polisakkarittir (67) . GAG' ların sülfatsız GAG' lar (hyaluronik asit) ve sülfatlı GAG' lar

(heparan sülfat ve heparin, kondroitin sülfat, dermatan sülfat ve keratan sülfat) olmak üzere iki tipi vardır (68).

Hyaluronik asit, tekrarlayan disakkarit ünitelerinden dallanmamış zincirden oluşur. Bakterilerde, sinovyal sıvıda, gözün vitreusunda, gevşek bağ dokusunda bulunur. Kondroitin sülfatlar (kondroitin- 4 sülfat ve kondroitin- 6 sülfat) Ksil- Ser- O glikozit bağları ile kondroitin sülfata bağlı olan proteoglikanlar kıkırdağın çok önemli bileşiklerindedir. Keratan sülfat I korneada bol miktarda bulunur. Keratan sülfat II, hyaluronik aside bağlı kondroitin sülfat ile birlikte gevşek bağ dokusunda bulunmaktadır. Heparan sülfat hücrelerin yüzeylerinde mevcuttur ve ekstrasellülerdir. Dermatan sülfat, yapısal olarak kondroitin sülfat ve heparan sülfata benzer.

Agrekan, hyalin kartilajdaki major proteoglikandır. Ayrıca menisküs, tendon, kas ve beyin dokusunun ekstrasellüler matriksinde önemli konsantrasyonlarda agrekan bulunmaktadır (69). Yüksek moleküler ağırlıklı, karmaşık yapıda makromoleküllerdir. Tipik olarak, ortada bir kor proteine bağlı GAG zincirlerinden oluşur. Agrekan, hyaluronan bağlayıcı bölge ile hyaluronana bağlanarak büyük molekül kütleli agregatlar yapar. Bir glikoprotein olan link proteini de hyaluronan ile etkileşerek daha büyük agregatlar oluşturur. Agregasyon ile proteoglikanların mobilizasyonu önlenir ve ekstrasellüler matrikse sağlamlık kazandırılır. İçeriğindeki polianyonik GAG' lar, kartilaja yüksek su içeriğini sağlarlar. Eklemde yüklenme sırasında artiküler kartilajın dayanıklılığında sorumludur. Eklemde, yük dağılımında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca su tutucu özelliği ile kıkırdağta molekül transportunda rol oynamaktadır. Agrekan, agrekanaz enzimi ile yıkıma uğratarak küçük proteoglikan fragmanlarına dönüştürülür (29,69).



Şekil 2: Agrekanın yapısı

Saxne ve arkadaşlarının çalışmasında (70), romatoid artritli hastalarda sinovyal sıvıda agrekan fragman konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir.

Travma sonrası ve erken osteoartrit döneminde diz eklemi sıvısında agrekan fragmanları konsantrasyonunun yüksek olduğu görülmüştür. Bunun da olasılıkla matriks yıkımına ve onarım sürecinde turnover hızının artmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Agrekan fragmanlarının, eklem hastalığının tedavi izleminde ve progresyonunun değerlendirilmesinde belirteç olarak kullanılabileceği tanımlanmıştır (5).

4.7. MENİSKÜS MUKOİD DEJENERASYONU

Glikoprotein ve mukoprotein içeren bağ dokuda mukoid ara madde artışı ile karakterize dejenerasyon tipidir. Parameniskal ve intrameniskal dejenerasyon olarak iki alt gruba ayrılır.

Parameniskal mukoid dejenerasyon (TİP A): Parameniskal bölgede lokalizedir. Fibrin ile örtülü ve bazen kısmi olarak epitelize olan yarıklar ve psödokistlerle bütünleşir. Çatlaklar perimeniskal bölgeye ve perisinovyal dokuya ulaşınca kistik bölgelerde menisküs periferinden epitelizasyon izlenir. İnterstisyel alanda az miktarda mukoid madde artışı izlenir.

Intrameniskal mukoid dejenerasyon (TİP B): Fibroz kıkırdak, bağ ya da tendon dokularında izlenen bu tip dejenerasyonda mukoid ara madde belirgin olarak artmıştır. Mukoid ara madde önce hücrelerin etrafında birikir, daha sonra artarak interstisyel alana yayılır. Polarize ışıktaki lif dağılımında bozukluk görülür (24,71) .

Mukoid dejenerasyon, literatürde kistik dejenerasyon, miksoid dejenerasyon, müsinoz dejenerasyon, köpüklü (foamy) dejenerasyon olarak da adlandırılır.

Birçok araştırmacı travmanın önemi rol oynadığına inanmaktadır. Smillie (72), eklem aralığına ekzojen travma ile birlikte kompresyonun neden olduğu endojen travmanın sorumlu olabileğini düşünmüştür. Ferrer- Roca (71), menisküs orta perforan liflerin bulunduğu alan daha fazla mekanik stres altında kalır ve buna sekonder kollajen hasarı oluştuğunu bildirmiştir.

Kliniğimizde yapılan çalışmada, mukoid dejenerasyon etiolojisinde enfeksiyon ve travmanın rol oynamadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada HLA DR 17, HLA DQ3 fenotiplerini taşıyan bireylerde mukoid dejenerasyon izlenme oranının daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu durum patolojik tablonun temelinde genetik faktörlerin rol oynayabileceğini düşündürmüştür (73).

Menisküs mukoid dejenerasyonu olan olgularda, en belirgin yakınma eklem aralığındaki belirsiz bir sızlamadır. Bu olgularda klinik belirsiz olduğu için tanı koymak zordur. Ağrı varlığı günlük aktivitelerin kısıtlanmasına neden olmaz, ancak spor aktivitelerinde, ağrıda belirgin artış olur. Periferde kist oluşumu varsa eklem aralığında şişlik saptanır. Bu şişlik genellikle lateral menisküs kistlerinde gözlenmekte olup, diz 45 derece fleksiyonda iken görülebileceği maksimum büyüklüğe ulaşır. Bu tablo ile birlikte en sık izlenen yırtık horizontal klivaj yırtığıdır. Yırtık oluşmuş ise kuadriseps atrofi ve sinovyal efüzyon saptanabilir, kilitleme ve boşalma gibi yakınmalar ortaya çıkabilir.

4.7.1. Menisküs mukoid dejenerasyon radyolojisi:

Normal menisküs T1 ve T2 ağırlıklı spin eko ve fast spin eko, gradient eko ve STIR sekanslarında, homojen, düşük sinyal intensitesinde izlenmektedir. Sağlam menisküsün düşük sinyal intensitesi, hareketli proteinlerin azlığına bağlıdır. Menisküs yırtık ve dejenerasyonunda izlenen yüksek sinyal intensitesi, sinovyal sıvı soğurulmasına bağlıdır. Sinovyal sıvının menisküs içine difüze olması ile dejenerasyon ve yırtık alanları sıvıyı hapsedmektedir. Menisküs içinde sinovyal sıvı ve büyük makromolekül ilişkileri protonların rotasyon oranlarını yavaşlatmakta ve T1 ve T2 değerlerini kısaltmaktadır. Dejenerasyon ve yırtıklarda izlenen intrameniskal yüksek sinyal intensitesi, en iyi kısa TE kullanılarak T1 ağırlıklı, proton dansite ağırlıklı ve gradient eko sekanslarda gösterilebilmektedir.

4.7.1.1. Manyetik rezonans görüntülemeye (MRG) Evre I: Nonartiküler fokal veya küresel intrasubstans artmış sinyal intensitesi izlenmektedir (Resim 1). Histolojik olarak, Evre

I sinyal intensitesi, erken müsinöz dejenerasyon odakları ve kondrosit eksikliği veya hiposellüler alanlar ile ilişkilidir. Bu alanlar Hematoksilen- Eosin boyalı preparatlarda soluk olarak boyanmaktadır. “Müsinöz”, “miksoid” ve “hyalin” dejenerasyon terimleri, meniskal fibrokartilajın mekanik stres altında kalan alanlarında artmış mukopolisakkarid madde birikimini tanımlamak amacı ile kullanılabilir. Bu değişiklikler genellikle mekanik yüklenme ve dejenerasyona yanıt olarak meydana gelmektedir. Evre I sinyal intensitesi asemptomatik atlet ve normal gönüllülerde görülebilir ve klinik önemi yoktur (74).



Resim 1: Proton dansite sagittal MRG görüntülerinde, medial menisküs arka boynuzunda evre I menisküs dejenerasyonu

4.7.1.2. MRG Evre II: Menisküsün periferinden uzanan, horizontal, lineer intrasubstans sinyal artımıdır (Resim 2). Artiküler menisküs yüzeyi ile ilişkisi yoktur. MR Evre I' e göre MR Evre II' de müsinöz dejenerasyon alanı daha geniştir. Evre II menisküste, yarık veya yırtık görülmemekle birlikte, fibrokartilajın matriksin hipersellüler alanlarında mikroskopik çatlamlar ve kollajen fragmantasyonu görülebilir.

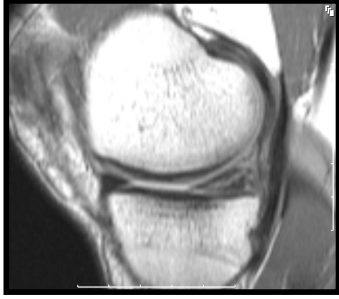
Evre II sinyal intensite görüntüsü olan hastalar genellikle asemptomatik olup, sinyal intensitesinin en sık lokalizasyonu medial menisküs arka boynuzudur. Bu evrede meniskal sinyal intensitesinin semptomatik menisküs yırtığı açısından risk faktörü olabileceği belirtilmiş olmasına karşın bu olasılığı kanıtlamak zordur. Üç yıllık takip çalışmalarında, Evre II menisküslerde progresyon tanımlanmamıştır (74-76).

Evre II sinyal intensitesi ve diskoid menisküste müsinöz dejenerasyonun kistik ve kaviter alanları görülebilir. Bu hastalar semptomatik olabilir ve parsiyel menisektomi ile tedavi gerektirebilir (74).



Resim 2: Sagittal planda, proton dansite MR görüntülerinde medial menisküs posterior boynuzunda, evre II menisküs dejenerasyonu ile uyumlu sinyal intensite artımı

4.7.1.3. MRG Evre III: Artmış sinyal intensite alanı en az bir eklem yüzüne açılmaktadır (Resim 3). Evre III sinyal intensiteli tüm menisküslerde fibrokartilajinöz ayrılma ve yırtık bulunmaktadır.



Resim 3: Sagittal planda, proton dansite görüntülerde medial menisküs posterior boynuzunda, evre III menisküs dejenerasyon ile uyumlu sinyal intensite artımı

4.7.2. Menisküs mukoid dejenerasyon patolojisi:

Ara madde, hücreler ve kollajen lifleri arasında bulunan vücudun nonepitelyal komponentidir. Ara madde oluşumu ve metabolizmasından bağ doku hücreleri sorumludur. Ara madde ve kollajen liflerden oluşan ekstrasellüler komponent, farklı bağ dokulara, kendilerine özgü özellikleri kazandırır. Ekstrasellüler interstisyel sıvı bu alanda bulunur. Sıvı içinde plazma konsantrasyonuna eşit değerlerde elektrolit, oksijen, karbondioksit, üre, glikoz gibi bileşenler vardır. Aynı zamanda bu yapı içinde glikoproteinler bulunur. Ara maddenin birçok karakteristik özelliğinin proteoglikanlar tarafından sağlandığı bildirilmiştir.

Birçok patolojik durumda esas mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Hipotiroidi ve hipertiroidiye bağlı miksödemde, bazı tümörlerde aşırı ara madde birikimi olur. Bazen birikim

lokalize olabilir. Belirgin boyutta olduğu zaman tanımlama için mukoid dejenerasyon tanımı kullanılır. Glikozaminoglikanlar, Alkalen Blue ile boyanırlar (77).

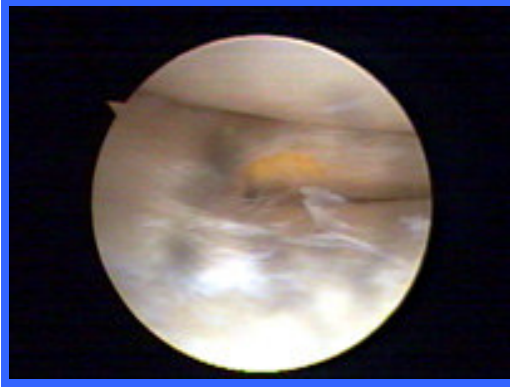
Copenhaver ve arkadaşları, Hematoksilen –Eosin boyasıyla boyanmış olan kesitlerde mukoid dejenerasyonu ışık mikroskopisi kriterlerine göre evrelendirmişlerdir

EVRE 0: Homojen eosinofilik boyanan kollajen ve normal kondrositler

EVRE 1: Fokal mukoid dejenerasyon alanları ve azalmış sayıda kondrosit

EVRE 2: Hiposellüler alanlar içerisinde mukoid dejenerasyon bantları

EVRE 3: Mukoid dejenerasyon ve fibrokartilajinöz ayrılma



Resim 4. Mukoid dejenerasyonlu menisküsün artroskopik görünümü

5. HASTALAR VE YÖNTEMLER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Diz Cerrahisi Polikliniği' ne diz ağrısı yakınması ile başvuran ve izole menisküs yırtığı düşünülen olgular çalışmaya dahil edildi. Olguların öyküleri alınıp fizik bakıları yapıldıktan sonra anterior- posterior ve lateral diz grafileri istendi. Gerekli görülen olgularda manyetik rezonans görüntüleri (MRG) elde edildi. Olgulara ait tüm bilgiler artroskopi değerlendirme formlarına kayıt edildi. Takiben yakınması olan dize yönelik artroskopik değerlendirmeler ve tedavileri yapıldı.

Öykü ve fizik bakısında izole menisküs yırtığı düşünülen, fizik bakıda ve radyolojik incelemelerde gonartroz bulguları bulunmayan, artroskopik değerlendirmede; izole menisküs yırtığı bulunan 32 hasta çalışmaya dahil edildi. Evre 3 ve Evre 4 kıkırdak lezyonu olan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen olgularda intraartiküler tedavi, uzun süreli non-steroid antienflamatuar tedavi ve diz cerrahisi öyküsü bulunmamaktaydı.

Diz artroskopisi öncesi hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam formu alındı. Anestezi sonrası, steril şartlar altında, lateral parapatellar yaklaşım ile diz eklemine 20 cc serum fizyolojik sıvı verildi. Ardından pasif olarak dize 20 kez tam fleksiyon-ekstansiyon hareketleri yaptırıldıktan sonra ponksiyon yapıldı. Elde edilen sinovyal sıvı örnekleri hastanemiz Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi ve birkaç saat içerisinde santrifüje edilerek - 70° C' de soğutularak depolandı.

Diz artroskopisi sırasında, yırtılmış menisküslere, tedavi amaçlı eksizyon yapıldı ve meniskal dokuların bir kısmı % 10 formalin içinde hastanemiz Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. Patolojik değerlendirme için örnekler %10 formalin içinde 24 saat fikse edildi. Doku işleminden sonra parafine gömülen dokulardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eosin boyası ve Alcian Blue ile boyandı. Işık mikroskopunda incelenen örnekler, Copenhaver ve arkadaşları tarafından belirlenen mukoid dejenerasyon ışık mikroskopisi kriterlerine göre evrelendi. Toplanan menisküs doku örneklerinin 6' sında Evre 1, 7' sinde Evre 2 ve 19' unda ise Evre 3 mukoid dejenerasyon saptandı. Evre 1 ve 2 mukoid dejenerasyon izlenen 13 hasta (13 menisküs) A çalışma grubunu; Evre 3 mukoid dejenerasyon izlenen 19 hasta (19 menisküs) ise B çalışma grubunu oluşturdu.

Elde edilen bu iki grubu karşılaştırmak amacı ile başka bir nedenle artroskopik girişim planlanan 9 olgunun, yakınması olmayan dizinden eklem sıvısı alınarak kontrol grubu (C grubu) oluşturuldu. Bu gruba diz yakınması ve travma öyküsü bulunmayan kişiler dahil edildi. Olgulara alışma hakkında bilgi verildi. Yapılacak işlem anlatıldıktan sonra yazılı bilgilendirilmiş onam formu alındı. Diz veya ayak bileği artroskopisi planlanan bu olgularda, anestezi verilmesi ardından, steril koşullar altında, yakınma olmayan diz eklemine, lateral parapatellar yaklaşım ile 20 cc serum fizyolojik enjekte edildi. Ardından dize 20 kez, pasif fleksiyon- ekstansiyon hareketi yaptırıldıktan sonra ponksiyon yapıldı. Elde edilen sinovial sıvı örneklere hastanemiz Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi ve birkaç saat içerisinde santrifüje edilerek - 70° C’ de soğutulularak depolandı.

5.1. HASTALARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya alınan A grubundaki 13 olgunun 9' u erkek, 4'ü kadındı. Yaş ortalaması 32.3 (19-48 y) olarak bulundu. 12 (%92.3) olgu 40 yaş ve altındaydı. 7 olguda sol diz, 6 olguda sağ diz etkilenmişti. 6 (%46.2) olguda travma öyküsü alındı. Bu olguların travma ile kliniğimize başvuru arasındaki süre 6.9 ay (0.2-23ay)' dı. Semptomların başlangıcı ile başvuru arasındaki süre 11.6 ay (0.2-36ay)' dı. Bu gruptaki hastaların en sık başvuru yakınması ağrı ve kilitlenme idi (Tablo 1).

Tablo 1: A grubundaki olguların klinik özellikleri

Sayı	Olgu	Cins	Yaş	Diz	Travma Öyküsü	Travma süresi (ay)	Yakınma süresi (ay)	Yakınma
1	A. Ö	E	35	Sağ	-	-	12	Ağrı
2	M. O	E	33	Sol	-	-	6	Ağrı, kilitlenme, bükememe
3	H. K	K	38	Sol	+	3	3	Ağrı, şişlik
4	H. K	E	19	Sol	+	12	12	Ağrı
5	İ.O	E	20	Sağ	-	-	24	Ağrı, takılma, bükememe
6	P. Z	K	38	Sağ	-	-	5	Ağrı, yanma
7	E.T	K	48	Sağ	+	1,5	36	Ağrı
8	S.K	E	35	Sol	+	0,23	0,23	Ağrı, kilitlenme, hareket kısıtlılığı
9	E.A	E	34	Sol	-	-	0,6	Ağrı, takılma
10	İ. P	E	31	Sağ	+	2	2	Ağrı
11	L.T	K	35	Sol	-	-	1	Ağrı, takılma, kilitlenme
12	C. E	E	31	Sol	-	-	36	Ağrı
13	G. Ö	E	23	Sağ	+	23	13	Ağrı

Çalışmaya alınan B grubundaki 19 olgunun 10' u erkek, 9'u kadın olup, ortalama yaşları 34.9 (13-52)' di. 12 (%63.2) olgu 40 yaş ve altındaydı. 9 olguda sol diz, 10 olguda sağ diz etkilenmişti. 5 (%26.3) olguda travma öyküsü alındı. Bu olguların travma ile kliniğimize başvuru arasındaki süre 16.4 ay (4- 48 ay)' dı. Semptomların başlangıcı ile başvuru arasında süre 13.4 ay (0. 6-36ay)' dı (Tablo 2).

Tablo 2: B grubundaki olguların klinik özellikleri

Sayı	Olgu	Cins	Yaş	Diz	Travma öyküsü	Travma Süresi (ay)	Yakınma süresi (ay)	Yakınma
1	M.E. K	E	52	Sol	-	-	24	Ağrı, kilitlenme, takılma, şişme
2	B. Ö	K	23	Sağ	-	-	24	Ağrı, takılma
3	İ. Ş	E	29	Sol	-	-	12	Ağrı, kilitlenme
4	M.R.D	E	41	Sağ	-	-	2	Ağrı, kilitlenme
5	Z. S	K	35	Sağ	-	-	0,6	Ağrı, bükememe
6	F. B. Ç	K	13	Sağ	+	4	4	Ağrı
7	Ş.S.	K	42	Sağ	-	-	7	Ağrı
8	E. K	E	33	Sol	+	6	6	Ağrı, kilitlenme
9	A. N	K	43	Sol	-	-	12	Ağrı, kilitlenme
10	H.Y	E	25	Sağ	-	-	7	Ağrı, kilitlenme
11	S.U	K	43	Sol	-	-	6	Ağrı, kilitlenme
12	A. Y	E	24	Sağ	+	12	12	Ağrı
13	E. K	E	53	Sol	+	12	12	Ağrı
14	Z.E	K	31	Sol	-	-	11	Ağrı
15	M. C	E	35	Sol	-	-	25	Ağrı
16	G. Y	K	27	Sol	-	-	24	Ağrı
17	A. A	E	39	Sağ	+	48	36	Ağrı
18	H. A	E	40	Sağ	-	-	5	Ağrı, kilitlenme
19	G. Ö	K	36	Sağ	-	-	24	Ağrı

Kontrol (C) grubundaki 9 olgunun 6'sı erkek, 3'ü kadındı. Ortalama yaş 27,9 (23-34)'di. Olguların hepsi 35 yaş ve altındaydı. 6 olguda sol, 3 olguda sağ dizden örnek alındı. 2 olguda ayak bileği artroskopisi yapılan taraftaki dizinden, diz artroskopisi yapılan olgularda ise karşı dizden örnek alındı (Tablo3) .

Tablo 3: Kontrol (C) grubundaki olguların klinik özellikleri

Sayı	Gönüllü Adı	Cins	Yaş	Diz	Yapılan ameliyat
1	M. E	E	29	Sol	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
2	E. A	E	34	Sağ	Sol diz İM arka1/3 parsiyel menisektomi
3	B. K	K	20	Sol	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
4	İ. P	E	30	Sol	Sağ diz DM orta 1/3 parsiyel menisektomi
5	M. V	K	30	Sağ	Sol diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
6	Ö.F. E	E	27	Sağ	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
7	A. S	E	24	Sol	Sol talus medialinde osteokondral lezyon debritleme
8	A. A	E	23	Sol	Sol talus medialinde osteokondral lezyon debritleme
9	Ö. I	K	34	Sol	Sağ diz laterel plika eksizyonu

ÖÇB: Ön çapraz bağ **İM:** İç menisküs **DM:** Dış menisküs

5. 2. HASTALARIN ARTROSKOPİK ÖZELLİKLERİ

A grubundaki 13 olgunun yapılan artroskopilerinde, 12 olguda iç, 1 olguda ise dış menisküsün etkilendiği saptandı. 9 olguda izole menisküs yırtığı, diğer 4 olguda ise menisküs yırtığına eşlik eden ek bulgular mevcut idi. Bu olguların 2' sinde medial femoral kondilde evre 1 kıkırdak lezyonu, 1' inde inkomplet diskoid dış menisküs ve 2' sinde anteromedial sinovyal hipertrofi mevcuttu. Bu ek bulgular çalışma dışı bırakılma kriteri değildi.

Bu grupta en sık radial menisküs yırtığı görüldü. Yırtık lokalizasyonları değerlendirildiğinde; iç menisküste en fazla yırtık menisküsün arka boynuzunda idi. Dış menisküsteki yırtık ise orta 1/3'te idi (Tablo 4).

Tablo 4: A grubundaki olguların artroskopik özellikleri:

Sayı	Olgu	Diz	Artroskopik Özellikler
1	A. Ö	Sağ	İM arka 1/3'te longitudinal-horizontal yırtık
2	M.O	Sol	İM orta-arka 2/3'te kompleks yırtık
3	H.K	Sol	İM arka 1/3'te horizontal-radial yırtık MFK' de evre 1 kıkırdak lezyonu
4	H. K	Sol	İM arka 1/3'te longitudinal + horizontal yırtık
5	İ.O	Sağ	İM orta-arka 2/3'te horizontal yırtık
6	P.Z	Sağ	İM arka 1/3'te dejenere radial yırtık DM inkomplet diskoid menisküs Anteromedial sinovyal hipertrofi
7	E.T	Sağ	İM arka 1/3'te nondeplase beyaz-beyaz kova sapı yırtık
8	S.K	Sol	İM arka 1/3'te radial yırtık Anteromedial sinovyal hipertrofi
9	E.A	Sol	İM arka 1/3' te radial yırtık MFK' de evre 1 kıkırdak lezyonu
10	İ.P	Sağ	DM orta 1/3'te radial-flep yırtık
11	L. T	Sol	İM arka 1/3'te radial-flep yırtık
12	C. E	Sol	İM orta-arka 2/3'te deplase kova sapı + radial yırtık
13	G.Ö	Sağ	İM arka 1/3'te longitudinal yırtık

MFK: Medial femur kondili **İM:** İç menisküs **DM:** Dış menisküs

B grubunda, 19 olgunun, yapılan artroskopilerde 14' inde iç, 5' inde ise dış menisküs lezyonu saptandı. 10 olguda izole menisküs yırtığı, diğer 9 olguda ise menisküs yırtığına eşlik eden bulgular mevcut idi. Bu olguların 1' inde medial femoral kondilde evre 2 kıkırdak lezyonu, 1' inde lateral femoral kondil ve lateral tibial platoda evre 2 kıkırdak lezyonu, 1' inde lateral tibial plato ve medial tibial platoda evre 2 kıkırdak lezyonu, 3' ünde inkomplet diskoid dış menisküs, 1' inde komplet diskoid dış menisküs, 1' inde iç menisküs kisti ve 1'inde medialde fenestre plika eşlik etmekteydi. Bu ek bulgular çalışma dışı bırakılma kriteri değildi.

Bu grupta en sık menisküs yırtık tipi longitudinal yırtıktı. Menisküs yırtık lokalizasyonları değerlendirildiğinde; en fazla iç menisküsün arka 1/3 ve orta-arka 2/3'ünde, dış menisküsün ise arka 1/3' lük bölümünde izlendi. (Tablo 5).

Tablo 5: B grubundaki olguların artroskopik özellikleri

Sayı	Olgu	Diz	Artroskopik Özellikler
1	ME. K	Sol	İM arka 1/3'te flep yırtık
2	B.Ö	Sağ	DM inkomplet diskoid menisküs DM ön-arka kompleks yırtık
3	İ.Ş	Sol	İM arka 1/3'te longitudinal-flep yırtık Medialde fenestre plika
4	MR. D	Sağ	İM arka 1/3'te flep yırtık
5	Z. S	Sağ	İM arka 1/3'te flep yırtık
6	FB. Ç	Sağ	DM orta-arka 2/3'te longitudinal yırtık DM inkomplet diskoid menisküs
7	Ş. S	Sağ	DM orta-arka 2/3'te longitudinal yırtık DM inkomplet diskoid menisküs
8	E. K	Sol	İM arka 1/3'te radial yırtık LFK ve LTP'da evre 2 kıkırdak lezyonu
9	A. N	Sol	İM orta-arka 2/3'te dejenere yırtık MFK evre 2 kıkırdak lezyonu
10	H. Y	Sağ	DM arka 1/3'te horizontal yırtık DM komplet diskoid menisküs
11	S. U	Sol	İM arka 1/3'te dejenere kompleks yırtık
12	A.Y	Sağ	İM orta-arka 2/3'te flep yırtık
13	E. K	Sol	İM orta-arka 2/3'te dejenere radial + flep yırtık
14	Z. E	Sol	İM arka 1/3'te dejenere kompleks yırtık
15	M. C	Sol	İM orta 1/3'te horizontal yırtık İM kisti
16	G. Y	Sol	İM arka 1/3'te longitudinal yırtık
17	A. A	Sağ	DM orta 1/3'te radial flep yırtık
18	H. A	Sağ	İM arka 1/3'te flep yırtık
19	G. Ö	Sağ	İM arka 1/3'te horizontal yırtık MTP ve LTP' da evre 2 kıkırdak lezyonu

MFK: Medial femur kondili, **MTP:** Medial tibia platosu, **LTP:** Laterel tibia platosu,

LFK: Lateral femur kondili, **İM:** İç menisküs, **DM:** Dış menisküs

5. 3. BİYOKİMYA ÇALIŞMASI

5.3.1. Enzim-Bağlı İmmunosorbent Ölçüm

Enzim-bağlı immunosorbent ölçüm (ELİSA), klinik analizlerde yaygın olarak kullanılan bir heterojen enzim-immün ölçüm (EIA) tekniğidir. Bu tip ölçümlerde, reaksiyon komponentlerinden biri katı faz yüzeyine bağlanmaktadır. Katı faz genellikle mikrotitrasyon kuyucuğu olmaktadır. Bağlanma nonspesifik adsorbsiyon, kimyasal veya immunokimyasal bağlanma olabilir. Enzim-bağlı immunosorbent ölçüm tekniğinde, ölçülecek antijeni içeren kalibratör veya örnek, katı faza bağlı olan antikorla bağlanması için bir süre inkübe edilir. Katı faz yıkandıktan sonra, bağlı antikordan farklı enzim işaretli bir antikor ortama eklenir ve katı faz üzerinde Antikor:Antijen:Antikor-enzim şeklinde bir sandviç kompleksi oluşur. Ortamdaki bağlı olmayan fazla antikor, yıkama ile uzaklaştırılır ve enzime spesifik bir substrat eklenir. Enzim işaretleyici eklenen substratı ürüne dönüştürür ve ürün miktarı örnekteki antijen miktarı ile doğru orantılıdır. Enzim-bağlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile örnekteki antikor miktarı da ölçülebilir. Burada antikor yerine antijen, katı faza bağlanmaktadır (78).

5. 3. 2. COMP ELISA

5. 3. 2. 1. YÖNTEMİN PRENSİBİ

Bu çalışmada doğal insan eklem kıkırdağı COMP kaplanmış 96-kuyucuklu plak ve insan COMP'e spesifik bir tavşan poliklonal antiserumundan yararlanılmaktadır (Hu COMP ELİSA Kit, İmmuLisa, New York/USA). Öncelikle örnek ve primer antiserum bir ön inkübasyon plağının içerisinde bir gece inkübe edilir. Daha sonra ön inkübasyon plağından COMP kaplanmış plağa transfer edilir. Bağlı antikor alkalın fosfataz işaretli anti tavşan IgG konjugat kullanılarak tayin edilir.

5. 3. 2. 2. REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

Yıkama tamponunun hazırlanması

30x konsantre yıkama tamponu distile su ile seyreltilir (20 mL konsantre yıkama tamponu + 580 mL distile su) ve +4°C'de saklanır.

5. 3. 2. 3. YÖNTEMİN PROSEDÜRÜ

1.GÜN

1. Yapılan ön denemeler sonucunda örneklerin 1: 200 oranında seyreltilmesinin uygun olduğu belirlendi. Bu nedenle örnekler distile suyla 1: 200 oranında seyreltildi.
2. Öncelikle 75 µL kalibratörler (C10, C20, C30, C40, C60, C80), kontroller (C1, C2) ve seyreltilmiş örnekler ön inkübasyon mikroplağına (dibi V şekilli) pipetlenir.
3. Tüm kuyucukların üzerine 75 µL anti-COMP eklenir ve 5 dakika mikroplak karıştırıcıda karıştırılır.
4. + 4°C’de bir gece (12-18 saat) inkübasyona bırakılır.

2.GÜN

1. Ön inkübasyon plağından 100 µL antijen kaplı plağa pipetlenir.
2. Bir saat oda sıcaklığında inkübe edilir.
3. Daha önce hazırlanmış olan yıkama tamponu ile kuyucukların içerisi 3 kere yıkanır.
4. Tüm kuyucuklara 100 µL Konjugat eklenir.
5. Bir saat oda sıcaklığında inkübe edilir.
6. Daha önce hazırlanmış olan yıkama tamponu ile kuyucukların içerisi 3 kere yıkanır.
7. Tüm kuyucuklara 100 µL pNPP-substrat çözeltisi eklenir.
8. Bir saat oda sıcaklığında inkübe edilir.
9. 405 nm’de mikroplak okuyucuda absorbansı okunur.
10. Standartların absorbans değerlerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizilir.
11. Bilinmeyen örneklerin ölçülen absorbans değerlerinden standart grafiği kullanılarak örneklerin COMP konsantrasyonları hesaplanır.

5. 3. 3. MMP-3 ELISA

5. 3. 3. 1. YÖNTEMİN PRENSİBİ

Bu yöntem kantitatif sandviç enzim immün deneme tekniğini kullanmaktadır. MMP-3'e spesifik bir poliklonal antikor daha önceden bir 96 kuyucuklu plak üzerinde kaplanmıştır (Hu MMP-3 ELISA Kit, R&D, Mineapolis/USA). Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenir ve mevcut olan MMP-3 immobilize edilmiş antikor tarafından bağlanır. Bağlanmamış olan materyaller yıkamayla uzaklaştırıldıktan sonra MMP-3'e spesifik bir enzim bağlı poliklonal antikor kuyucuklara eklenir. Bağlanmamış antikor-enzim reaktifi bir yıkama yoluyla uzaklaştırılmasının ardından bir substrat çözeltisi kuyucuklara eklenir ve ilk adımda bağlanan total MMP-3 (pro ve/veya aktif) miktarına orantılı olarak renk oluşumu gözlenir. Renk oluşumu durdurulur ve renk yoğunluğu ölçülür.

5. 3. 3. 2. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

Yapılan ön denemeler sonucunda örneklerin 1:25 oranında seyreltilmesinin uygun olduğu belirlendi. Bu nedenle örnekler kalibratör dilüenti ile 1:25 oranında (10 µl örnek + 250 µL kalibratör dilüenti) seyreltildi.

5.3.3.3. REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

A. Yıkama tamponunun hazırlanması

500 mL yıkama tamponu hazırlanması için 20 mL konsantre edilmiş yıkama tamponu 480 mL distile su ile seyreltilir.

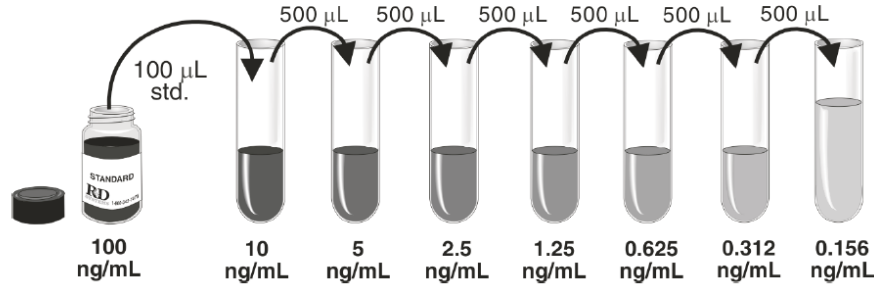
B. Substrat Çözeltisinin hazırlanması

Eşit hacimlerde renk reaktifi A ve renk reaktifi B karıştırılır. Hazırlanan karışım 15 dakika içerisinde kullanılmalıdır ve ışıktan korunmalıdır.

C. Total MMP-3 Standardının hazırlanması

1.0 mL distile su ile MMP-3 standardı çözülerek hazırlanır. Bu şekilde 100 ng/ml stok çözeltisi elde edilir. Diğer dilüsyonlar hazırlanmadan önce bu standart 30 dakika hafifçe karıştırılarak bekletilir.

900 µL kalibratör dilüent RD5-10, bir tüp içerisine pipetlenir, bunun üzerinde 100 ng/ml stok çözeltisinden 100 µL eklenir ve bu şekilde 10 ng/mL standardı elde edilir. Daha sonra bu standart çözeltisinden 500 µL başka bir tüpe aktarılır ve üzerinde 500 µL kalibratör dilüent RD5-10 eklenerek 5 ng/mL standart çözeltisi elde edilir. Bu şekilde aşağıdaki şekle göre standart çözeltileri hazırlanır.



Şekil 3: Standart çözeltilerin hazırlanması

5. 3. 3. 4. YÖNTEMİN PROSEDÜRÜ

1. Çalışma plağı alınır ve her kuyucuğa 100 µL assay dilüent RD1-52 eklenir.
2. Her kuyucuğa 100 µL standart, kontrol ve örnekler eklenir ve yapışkan bant ile plağın üzeri kapatılır. İki saat oda sıcaklığında bir horizontal orbital mikropalak çalkalayıcıda 500 ± 50 rpm'de karıştırılır.
3. İnkübasyon sonunda kuyucuklar içerisindeki çözelti dikkatlice boşaltılır ve yıkama işlemi uygulanır. Yıkama işlemi için her kuyucuğa 300 µL yıkama tamponu konur ve hafifçe karıştırıldıktan sonra kuyucukların içerisindeki tampon dikkatlice boşaltılır. Bu işlem 4 kere tekrar edilir.
4. Her kuyucuğa 200 µL MMP-3 konjugatı eklenir. Üzeri yeni bir yapışkan bant ile kapatılır ve iki saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edilir.

5. İnkübasyondan sonra tekrar yıkama işlemi uygulanır.
6. Her kuyucuğa 200 µL substrat çözeltisi eklenir. 30 dakika oda sıcaklığında ışıktan korunarak inkübe edilir.
7. Her kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklenir. Kuyucuklardaki mavi çözelti sarıya dönmelidir.
8. 30 dakika içerisinde mikropalak okuyucu ile 450 nm'de kuyucukların absorpsansları okunur.
9. Standartların absorpsans değerlerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizilir.
10. Bilinmeyen örneklerin ölçülen absorpsans değerlerinden standart grafiği kullanılarak örneklerin MMP-3 konsantrasyonları hesaplanır.

5. 3. 4. TIMP 1 ELISA

5. 3. 4. 1. YÖNTEMİN PRENSİBİ

Bu çalışmada katı faz sandviç Enzim-Bağlı-İmmün Sorbent Assay (ELISA) olan Invitrogen Human TIMP1 kiti kullanılmıştır (Hu TIMP-1 ELISA Kit, Invitrogen, California/USA). İnsan TIMP-1'ine spesifik bir monoklonal antikor, 96 kuyucuklu plağın kuyucukları içerisine kaplanmıştır. Bu kuyucuklar içerisine önce TIMP-1 içeriği bilinen standartlar, kontrol örnekleri ve içeriği bilinmeyen örnekler daha sonra biyotinlenmiş monoklonal sekonder antikor pipetlenir. İlk inkübasyon sırasında insan TIMP-1 antijeni eş zamanlı olarak bir yandan immobilize edilmiş olan antikora, diğer yandan çözelti fazında bulunan biyotinlenmiş antikora bağlanır. Fazla sekonder antikorun yıkamayla uzaklaştırılmasının ardından Streptavidin-peroksidaz enzimi eklenir. Bu enzim, dört üyeli sandviçi tamamlamak amacıyla biyotinlenmiş antikora bağlanır. İkinci bir inkübasyon ve bağlanmamış enzimi uzaklaştırmak amacıyla yıkama işlemi yapıldıktan sonra enzime bağlanarak renk oluşabilen bir substrat çözeltisi eklenir. Oluşan renklenmiş ürünün yoğunluğu, direkt olarak esas örnekte bulunan TIMP-1 konsantrasyonunun oranıdır.

5. 3. 4. 2. REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

A. İnsan TIMP-1 Standartlarının Hazırlanması

25 ng/mL standart çözeltisinden, aşağıdaki gibi standartlar hazırlandı. Seyreltmeler için standart dilüsyon tamponu kullanıldı.

Tablo 6: Standart çözeltinin hazırlanması

Standart	Hazırlanışı
12.5 ng/mL	0.150 mL Standart 25 ng/mL + 0.150 mL dilüsyon tamponu
6.25 ng/mL	0.150 mL standart 12.5 ng/mL + 0.150 mL dilüsyon tamponu
3.12 ng/mL	0.150 mL standart 6.25 ng/mL + 0.150 mL dilüsyon tamponu
1.56 ng/mL	0.150 mL standart 3.12 ng/mL + 0.150 mL dilüsyon tamponu
0 ng/ml	0.150 mL dilüsyon tamponu

B. Streptavidin-HRP Dilüsyonunun Hazırlanması

10 µL Streptavidin-HRP 100x konsantre çözelti, her bir kuyucuk için 1mL Streptavidin-HRP dilüenti ile seyreltilir. Oluşan çözelti Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi olarak kullanılır.

C. Yıkama Tamponu Dilüsyonunun Hazırlanması

1 hacim 25x yıkama tamponu 24 hacim deiyonize edilmiş su ile seyreltilir (50ml 25x yıkama tamponu + 1.25 litre deiyonize edilmiş su). Hazırlanan seyreltilmiş yıkama tamponu buzdolabında saklanır ve 14 gün içerisinde kullanılmalıdır.

5. 3. 4. 3. YÖNTEMİN PROSEDÜRÜ

1. Yapılan ön denemeler sonucunda örneklerin 1:20 oranında seyreltilmesinin uygun olduğu belirlendi. Bu nedenle örnekler, standart dilüsyon tamponu ile 1:20 oranında (10 µL örnek + 190 µL standart dilüsyon tamponu) seyreltildi.
2. Boş kuyucuklara 50 µL standart dilüsyon tamponu eklenir. Kromojen körü için ayrılan kuyucuk boş bırakılır.
3. Kuyucuklara daha önceden hazırlanmış olan standartlar ve örneklerden 50 µL eklenir.
4. Kör haricindeki diğer kuyucuklara 50 µL biyotinlenmiş anti-TIMP-1 (Biyotin Konjugat) çözeltisi eklenir ve plak hafifçe karıştırılır.
5. Plak kapağı ile plağın üzeri kapatılır ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilir.
6. Kuyucuklardaki çözelti atılır ve daha önce hazırlanmış olan yıkama çözeltisi ile 4 kere yıkanır.
7. Daha sonra kromojen körünün olduğu kuyucuklar hariç tüm kuyucuklara 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir.
8. Plak kapağı ile plağın üzeri kapatılır ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.
9. Kuyucuklardaki çözelti atılır ve daha önce hazırlanmış olan yıkama çözeltisi ile 4 kere yıkanır.
10. Tüm kuyucuklara 100 µL stabilize edilmiş kromojen eklenir ve kuyucuklardaki sıvı mavi renge dönmeye başlar.
11. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilir.
12. İnkübasyon süresi sonunda her kuyucuğa 100 µL durdurma çözeltisi konulur ve hafifçe plak karıştırılır. Kuyucuklardaki çözelti maviden sarıya dönmelidir.
13. Plak okuyucu ile 450 nm'de 100 µL stabilize edilmiş kromojen ve 100 µL durdurma çözeltisi içeren kromojen körüne karşı her kuyucuğun absorbansı okundu.

14. Standartların absorbans değerlerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizilir.

15. Bilinmeyen örneklerin ölçülen absorbans değerlerinden standart grafiği kullanılarak örneklerin TIMP-1 konsantrasyonları hesaplanır.

5. 3. 5. PROTEOGLİKAN ANALİZ YÖNTEMİ

5. 3. 5. 1. YÖNTEMİN PRENSİBİ

Proteoglikanlar, kıkırdağın su moleküllerine bağlanmasını mümkün kılarlar ve eklem kıkırdağının ve intervertebral disklerin tam fonksiyon gösterebilmesinde önemli rolleri vardır. Sülfatlı glikozaminoglikan (GAG) düzeyleri, çözeltide bu asidik polimerin bazik bir boya olan 1,9-dimetiletilen mavisine (DMB) bağlanmasıyla tayin edilebilir. Sonuç olarak oluşan metakromatik değişiklik 525 nm’de pik vermektedir ve bu nedenle spektrofotometrik olarak ölçümleri yapılabilmektedir.

5. 3. 5. 2. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

1. Dimetiletilen Mavisi (DMB) Çözeltisinin Hazırlanması

16 mg DMB, 3.04 g glisin, 2.37 g NaCl bir behere tartılır ve üzerine yaklaşık 900 mL distile su eklenerek 2 saat süreyle karıştırılır. HCl kullanılarak pH değeri 3.0’a ayarlanır ve distile su ile 1 L’ye tamamlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

2. Kondroitin Sülfat (KS) Standartlarının Hazırlanması

50 µg/mL stok çözeltisi hazırlanır ve -20°C’de saklanır. Bu stok standart kullanılarak aşağıdaki seyreltmeler yapılır (Tablo7).

Tablo 7: Seyreltmelerin yapılışı

Standart Numarası	Standart Konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	50 $\mu\text{g/ml}$ stok KS çözeltisi miktarı (μL)	Distile su miktarı (μL)
1	0	0	300
2	5	30	270
3	10	60	240
4	15	90	210
5	20	120	180
6	25	150	150
7	30	180	120
8	35	210	90
9	40	240	60
10	45	270	30
11	50	300	0

3

5. 3. 5. 3. YÖNTEMİN PROSEDÜRÜ

1. 96 kuyucuklu bir plağa daha önceden hazırlanmış olan örnek dilüsyonlarından ve standartlardan 20 μL eklenir.
2. Tüm kuyucuklara 250 μL DMB çözeltisinden eklenir.
3. 30 dakika içerisinde 525 nm'de absorbens değerler okunur.
4. Standartların absorbens değerlerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizilir.
5. Bilinmeyen örneklerin ölçülen absorbens değerlerinden standart grafiği kullanılarak örneklerin sülfatlı GAG konsantrasyonları hesaplanır.

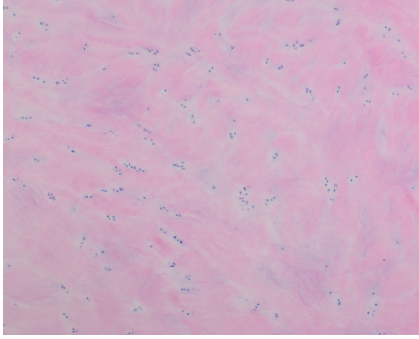
5. 4. İSTATİSTİK (ÇÖZÜMLEME) YÖNTEMLERİ:

Veriler SPSS For Windows 11.0 programında değerlendirildi. Çözümlemede parametrik test koşulları sağlanamadığı için nonparametrik testler kullanıldı. İki grubun karşılaştırıldığı durumlarda Mann-Whitney U Testi kullanıldı. Biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişki, Spearman Korelasyon Analizi ile belirlendi. İstatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi, $p < 0.05$ olarak alındı.

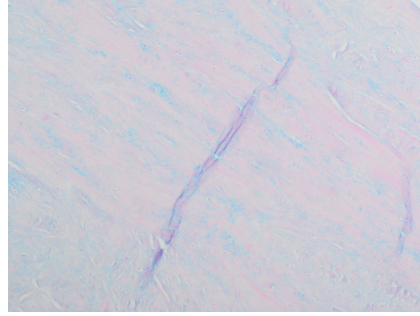
6. BULGULAR

6.1. PATOLOJİK BULGULAR

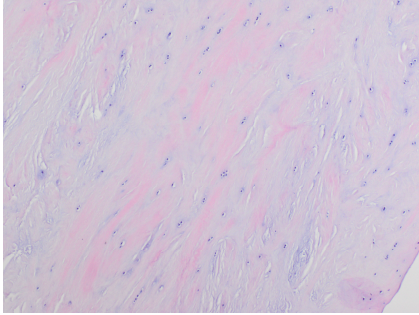
32 hastadan artroskopik yöntemle alınan menisküs örnekleri (n=32) mukoid dejenerasyon yönünden Copenhaver ve arkadaşlarının kriterlerine göre evrelendi. Örneklerin tümü değerlendirildiğinde 6'sı evre 1, 7'si evre 2 ve 19'u evre 3 olarak saptandı.



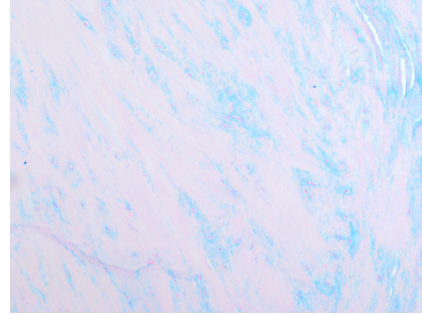
5a: Evre 1 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Hematoksilen- Eosin boyama)



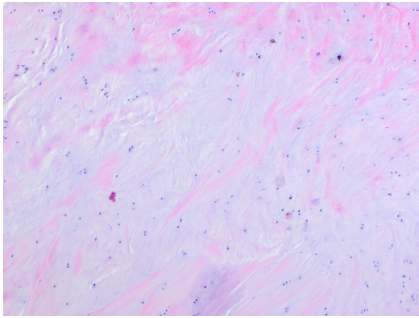
5b: Evre 1 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Alcian Blue boyama)



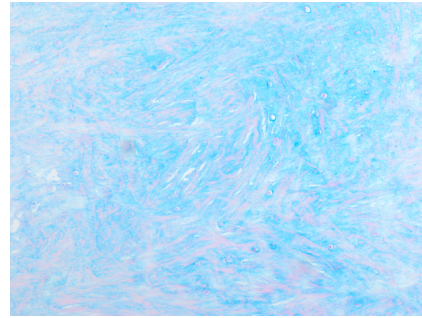
5c: Evre 2 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Hematoksilen- Eosin boyama)



5d: Evre 2 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Alcian Blue boyama)



5e: Evre 3 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Hematoksilen- Eosin boyama)



5f: Evre 3 Mukoid Dejenerasyon
(x100 Alcian Blue boyama)

Resim 5; **5a ve 5b:** Fokal mukoid dejenerasyon alanları ve azalmış sayıda kondrosit

5c ve 5d: Hiposellüler alanlar içerisinde mukoid dejenerasyon bantları

5e ve 5f: Mukoid dejenerasyon ve fibrokartilajinöz ayrılma

6. 2. BİYOKİMYASAL BELİRTEÇ DÜZEYLERİ:

A, B ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeyleri Tablo 8, 9 ve 10'da verilmiştir. Her grup için ortalama değerler şu şekildedir; COMP: A grubunda 7676.9 ± 4687.7 ng/mL, B grubunda 8052.6 ± 4315.5 ng/mL, C grubunda 8722.0 ± 4478.6 ng/mL. MMP-3: A grubunda 138.5 ± 121.2 ng/mL, B grubunda 143.7 ± 139.9 ng/mL, C grubunda 43.6 ± 34.9 ng/mL. TIMP-1: A grubunda 214.7 ± 217.6 ng/mL, B grubunda 192.7 ± 215.8 ng/mL, C grubunda 91.7 ± 62.5 ng/mL. PG fragmanları: A grubunda 29.2 ± 12.9 µg/mL, B grubunda 109.0 ± 145.4 µg/mL, C grubunda 34.3 ± 24.9 µg/mL. (Tablo 11)

Tablo 8: A grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

Sayı	Olgu	Yaş	MD evresi	COMP (ng/mL)	MMP-3 (ng/mL)	TİMP-1 (ng/mL)	PG fragmanları (µg/mL)	Travma öyküsü (ay)	Travma süresi (ay)	Kıkırdak lezyonu
1	A. Ö	35	1	3473	23.48	-4.74	35	-	-	-
2	M.O	33	1	3828	36.41	17.06	15	-	-	-
3	H. K	38	1	15108	171.82	481.22	17	+	3	MFK' de evre 1 kıkırdak lezyonu
4	H. K	19	1	4842	9.22	36.98	35	+	12	-
5	İ. O	20	1	4882	109.99	40.96	25	-	-	-
6	P.Z	38	2	3749	7.88	64.44	25	-	-	-
7	E.T	48	2	5010	58.86	174.51	37	+	1.5	-
8	S.K	35	2	6990	304.85	521.89	31	+	0.2	-
9	E.A	34	2	13660	375.15	514.37	33	-	-	MFK' de evre 1 kıkırdak lezyonu
10	İ. P	31	2	3552	188.32	189.39	24	+	2	-
11	L. T	35	2	6665	224.58	242.22	61	-	-	-
12	C.E	31	2	12833	237.22	515.81	9	-	-	-
13	G. Ö	23	1	15207	53.21	-3.27	32	+	23	-

MD: Mukoid dejenerasyon,**PG:** proteoglikan,**MFK:** Medial femur kondili

Tablo 9: B grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

Sayı	Olgu	Yaş	MD evresi	COMP (ng/mL)	MMP-3 (ng/mL)	TİMP-1 (ng/mL)	PG fragmanları (µg/mL)	Travma öyküsü (ay)	Travma süresi (ay)	Kıkırdak lezyonu
1	M.E. K	52	3	5177	56.48	54.38	27	-	-	-
2	B. Ö	23	3	5857	7.28	92.75	32	-	-	-
3	İ.Ş	29	3	9670	26.46	12.24	59	-	-	-
4	M.R. D	41	3	7621	249.26	218.74	25	-	-	-
5	Z. S	35	3	5562	376.19	524.19	71	-	-	-
6	F.B. Ç	13	3	3542	123.81	246.21	27	+	4	-
7	Ş. S	42	3	15768	12.49	2.60	27	-	-	-
8	E.K	33	3	6704	368.46	515.60	116	+	6	LFK ve LTP'da evre 2 kıkırdak lezyonu
9	A. N	43	3	3059	177.47	443.27	225	-	-	MFK evre 2 kıkırdak lezyonu
10	H.Y	25	3	12931	344.98	508.26	72	-	-	-
11	S.U	43	3	8074	35.67	49.56	140	-	-	-
12	A. Y	24	3	17207	169.59	1.34	533	+	12	-
13	E.K	53	3	9325	239.45	399.65	451	+	12	-
14	Z.E	31	3	3443	90.67	13.50	32	-	-	-
15	M.C	35	3	11148	44.59	45.58	88	-	-	-
16	G. Y	27	3	3000	8.03	-1.38	17	-	-	-
17	A. A	39	3	3394	14.71	6.37	24	+	48	-
18	H. A	40	3	9246	370.69	513.50	23	-	-	-
19	G. Ö	36	3	12271	13.08	15.18	87	-	-	MTP ve LTP'da evre 2 kıkırdak lezyonu

MD: Mukoid dejenerasyon, **PG :** proteoglikan, **MFK:** Medial femur kondili
LFK: Lateral femur kondili, **MTP:** Medial tibia kondili, **LTP:** Lateral tibia kondili

Tablo 10: Kontrol (C) grubundaki olguların biyokimyasal belirteç düzeyleri

No	Yaş	Gönüllü Adı	COMP (ng/mL)	MMP-3 (ng/mL)	TİMP-1 (ng/mL)	PG fragmanları (µg/mL)	Yapılan ameliyat
1	29	M.E	10143	33.74	131.53	45	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
2	34	E.A	15473	68.22	209.53	43	Sol diz İM arka 1/3 parsiyel menisektomi
3	20	B.K	3453	-0.30	-2.64	25	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
4	30	İ. P	12232	70.30	80.59	55	Sağ diz DM orta 1/3 parsiyel menisektomi
5	30	M.V	6478	112.96	140.55	8	Sol diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
6	27	Ö.F. E	5404	35.23	98.41	3	Sağ diz ÖÇB rekonstrüksiyonu
7	24	A.S	4320	30.77	72.20	24	Sol talus medialinde osteokondral lezyon debritleme
8	23	A. A	6557	32.55	49.56	23	Sol talus medialinde osteokondral lezyon debritleme
9	34	Ö. I	14438	8.62	45.37	83	Sağ diz laterel plika eksizyonu

İM: İç menisküs,

DM: Dış menisküs,

PG: Proteoglikan

A ve C grubu biyokimyasal belirteç düzeyleri arasındaki karşılaştırmada; COMP (p= 0.570), MMP- 3 (p= 0.077), TIMP- 1 (p= 0.570) ve proteoglikan fragman (p= 0.894) konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 11).

Tablo 11: A ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

		A GRUBU	C GRUBU	p değeri
COMP (ng/mL)	Ort+ SS	7676.9±4687.7	8722.0±4478.6	0.570
	Ortanca	5010	6557	
	Min- Max	3473-15207	3453-15473	
MMP- 3 (ng/mL)	Ort+ SS	138.5±121.2	43.6±34.9	0.077
	Ortanca	109.99	33.74	
	Min- Max	7.88-375.15	-0.3-112.96	
TIMP (ng/mL)	Ort+ SS	214.7±217.6	91.7±62.5	0.570
	Ortanca	174.51	80.59	
	Min- Max	-4.74-521.89	-2.64-209.53	
PG Fragmanları (µg/mL)	Ort+ SS	29.2±12.9	34.3±24.9	0.894
	Ortanca	31	25	
	Min- Max	9-61	3-83	

Ort+ SS: Ortalama değer + standart sapma, **Min- Max:** Minimum-maksimum değer

B ve C grubu biyokimyasal belirteç düzeyleri değerlendirmesinde COMP (p= 0.676), MMP- 3 (p= 0.121), TIMP- 1 (p= 0.768) ve proteoglikan fragman (p= 0.055) konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 12). Proteoglikan fragman konsantrasyonları arasındaki ilişkide B grubunun ortalama değeri C grubuna göre yüksek bulunmasına karşın p değeri anlamlılık sınırındaydı.

Tablo 12: B ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

		B GRUBU	C GRUBU	p değeri
COMP (ng/mL)	Ort+ SS	8052.6±4315.5	8722.0±4478.6	0.676
	Ortanca	7621	6557	
	Min- Max	3000-17207	3453-15473	
MMP- 3 (ng/mL)	Ort+ SS	143.7±139.9	43.6±34.9	0.121
	Ortanca	90.67	33.74	
	Min- Max	7.28-376.19	-0.3-112.96	
TIMP (ng/mL)	Ort+ SS	192.7±215.8	91.7±62.5	0.768
	Ortanca	54.38	80.59	
	Min- Max	-1.38-524.19	-2.64-209.53	
PG Fragmanları (µg/mL)	Ort+ SS	109.0±145.4	34.3±24.9	0.055*
	Ortanca	59	25	
	Min- Max	17-533	3-83	

Ort+ SS: Ortalama değer + standart sapma, **Min- Max:** Minimum-maksimum değer

* : İstatistiksel anlamlılığın sınırında

A ve B grubu biyokimyasal belirteç düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; gruplarda COMP (p= 0.83), MMP- 3 (p= 0.42) ve TIMP- 1 (p= 0.71) konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak B grubundaki sinovyal sıvıdaki proteoglikan fragman konsantrasyonunun A grubundakine göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (p=0.044). (Tablo 13) .

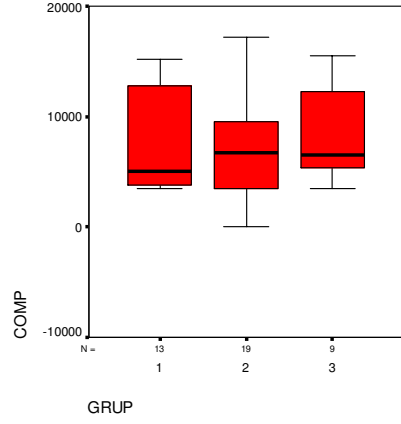
Tablo 13: A ve B gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin değerlendirilmesi

		A GRUBU	B GRUBU	p değeri
COMP (ng/mL)	Ort+ SS	7676.9±4687.7	8052.6±4315.5	0.833
	Ortanca	5010	7621	
	Min- Max	3473-15207	3000-17207	
MMP- 3 (ng/mL)	Ort+ SS	138.5±121.2	143.7±139.9	0.924
	Ortanca	109.99	90.67	
	Min- Max	7.88-375.15	7.28-376.19	
TIMP (ng/mL)	Ort+ SS	214.7±217.6	192.7±215.8	0.715
	Ortanca	174.51	54.38	
	Min- Max	-4.74-521.89	-1.38-524.19	
PG Fragmanları (µg/mL)	Ort+ SS	29.2±12.9	109.0±145.4	0.044*
	Ortanca	31	59	
	Min- Max	9-61	17-533	

Ort+ SS: Ortalama değer + standart sapma, **Min- Max:** Minimum-maksimum değer

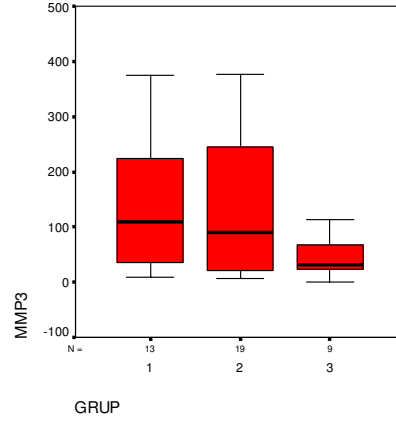
* : İstatiksel olarak anlamlı

A, B ve C gruplarındaki biyokimyasal belirteç düzeylerini gösteren kutu grafikler (box plot) aşağıdaki verilmiştir.



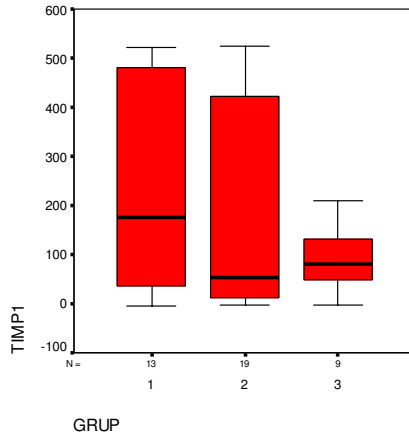
Grafik 1: COMP değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

- 1: A grubu
- 2: B grubu
- 3: C grubu



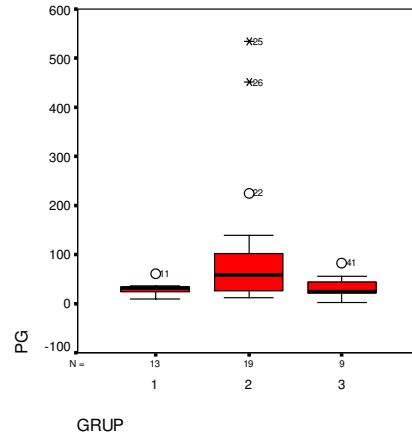
Grafik 2: MMP-3 değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

- 1: A grubu
- 2: B grubu
- 3: C grubu



Grafik 3: TIMP-1 değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

- 1: A grubu
- 2: B grubu
- 3: C grubu



Grafik 4: PG fragmanları değerlerinin gruplara göre kutu grafikleri

- 1: A grubu
- 2: B grubu
- 3: C grubu

Travma öyküsü olan veya olmayan menisküs yırtığı olan olgular (A ve B grubu) ile kontrol grubu (C grubu) karşılaştırılarak menisküs yırtığının belirteç düzeyleri üzerindeki etkisi araştırıldığında, menisküs yırtığı varlığının biyokimyasal belirteçler üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı saptandı. (COMP'in p=0.592, MMP-3'in p=0.068, TİMP-1'in p= 0.648 ve PG fragmanlarının p=0.243) (Tablo 14).

Tablo 14: Menisküs yırtığı olan olgular (A ve B grubu) ve Kontrol grubunun (C grubu), biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

	A+B grubu	C grubu	p değeri
	Menisküs yırtığı (+) (n=32) ortalama+st. sapma	Kontrol Grubu (n=9) ortalama+st. sapma	
COMP (ng/mL)	7899.9±4399.4	8722.0±4478.6	0.592
MMP-3 (ng/mL)	141.6±130.7	43.6±34.9	0.068*
TİMP-1 (ng/mL)	201.6±213.3	91.7±62.5	0.648
Pg Fragmanları (µg/mL)	76.6±117.9	34.3±24.9	0.243

* : İstatiksel anlamlılığın sınırında

Travma öyküsü olan menisküs yırtıklı olgular (n= 11) ile kontrol grubunun (C grubu n= 9) biyokimyasal belirteç düzeyleri değerlendirildiğinde; travma öyküsü olan grupta MMP- 3 konsantrasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı (p= 0.025). Ancak diğer biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı (COMP' in p=0.790, TIMP-1'in p=0.271, PG fragmalarının p=0.382) (Tablo 15).

Tablo 15: Travma öyküsü olan menisküs yırtıklı olgular ile C grubu olguların biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

	Travma (+) (n=11) ortalama+st. Sapma	C grubu (n=9) ortalama+st. sapma	p değeri
COMP (ng/mL)	8261.9±5203.1	8722.0±4478.6	0.790
MMP-3 (ng/mL)	154.8±117.6	43.6±34.9	0.025*
TİMP-1 (ng/mL)	233.6±213.9	91.7±62.5	0.271
PG Fragmanları (µg/mL)	120.6±186.4	34.3±24.9	0.382

* : İstatiksel olarak anlamlı

Travma öyküsü olmayan menisküs yırtıklı olgular (n= 21) ve kontrol grubu (C grubu n= 9) biyokimyasal belirteç düzeyleri değerlendirildiğinde biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı (MMP- 3 p=0.541, COMP' in p=0.197, TIMP-1'in p=1.000, PG fragmanlarının p=0.248) (Tablo 16).

Tablo 16: Travma öyküsü olmayan menisküs yırtıklı olgular ile C grubu olguların biyokimyasal belirteç düzeylerinin ortalama konsantrasyonları

	Travma (-) (n=21) ortalama+st. Sapma	C grubu (n=9) ortalama+st. sapma	p değeri
COMP (ng/mL)	7710.3±4044.1	8722.0±4478.6	0.541
MMP-3 (ng/mL)	134.7±139.3	43.6±34.9	0.197
TİMP-1 (ng/mL)	184.9±216.3	91.7±62.5	1.000
PG Fragmanları (µg/mL)	53.7±50.6	34.3±24.9	0.248

Biyokimyasal belirteçler arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde hem A grubu, hem de B grubunda MMP- 3 ve TİMP- 1 konsantrasyonları arasında olumlu, çok güçlü ve anlamlı ilişki bulundu (A grubunda, r=0.84, p<0.0001; B grubunda r=0.78, p<0.0001). MMP- 3 konsantrasyonunun arttığı durumlarda TİMP- 1 konsantrasyonunun da arttığı saptandı.

7. TARTIŞMA

Son yıllarda kıkırdak patolojilerinin erken tanınmasını sağlayacak belirteç ölçümü çalışmaları gündemde olup, deneysel artroz modelleri ve klinik çalışma grupları ile hangi molekülün belirteç olarak kullanılabileceği yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Kıkırdağın moleküler belirteçleri fizyolojik koşullarda ve kas iskelet sistemini ilgilendiren hastalıklarda, enflamasyon, doku hasarı ve onarımı gibi metabolik değişiklikleri ve kemik, kıkırdak ve sinovyum arasındaki ilişkiyi anlamamıza yardım eden yapılardır. Bu yapılar, kollajen, proteoglikan ve ekstrasellüler matrisi oluşturan protein yapısında olan veya olmayan tüm moleküller olup, çeşitli kıkırdak patolojilerinde ve aynı patolojinin değişik evrelerinde artma veya azalma gösterirler (29,53).

Eklem patolojilerinde belirteç ölçümünün en önemli amacı kıkırdak hasarını henüz radyolojik olarak saptanmadığı erken dönemde tanıyabilmektir (29). Radyolojik olarak eklem dejenerasyonunun saptandığı ve artroz tanısının konduğu dönem, çoğunlukla gerçekte moleküler açıdan kıkırdak hasarının ileri dönemidir. Erken tanının yanı sıra hastalığın aktivitesinin takibi ve hastalığın şiddetinin belirlenmesi, prognozunun tahmini ve tedaviye yanıtın anlaşılabilmesi belirteç ölçümünün amaçları arasındadır (29,79,80).

Kliniğimizde uzun zamandır yapılan diz artroskopilerinde travma öyküsü bulunmayan ve tipik klinik bulgu vermeyen azımsanmayacak kadar olguda menisküs yırtıklarının olması dikkat çekmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda bu menisküslerde mukoid dejenerasyon varlığı izlenmiştir. Çalışmamızda menisküslerde izlenen mukoid dejenerasyon evresi ile sinovyal sıvıdaki biyokimyasal belirteç düzeyleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Erken ve ileri evre mukoid dejenerasyon (A ve B grubu) arasında yapılan karşılaştırmada proteoglikan fragman düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($P= 0.044$). Buna göre, menisküs yırtıklarında mukoid dejenerasyon evresi arttıkça eklem sinovyal sıvısındaki PG fragman konsantrasyonu da yükselmektedir. Tavşanlarda, zıplama egzersizi sonrası eklem sıvısı ve eklem kıkırdağındaki değişikliklerle ilgili yapılan çalışmada (81), eklem kıkırdağında sülfatlı glikozaminoglikan kaybı olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir. Sülfatlı GAG yıkımının mekanik faktörlere bağlı olabileceği gibi bazı enzimlerin de yıkımdan sorumlu olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmacılara göre zıplama sırasında, eklem kıkırdağı üzerindeki yüklenme basıncı kısa sürede pik yapmaktadır. İnterstisyel sıvı basıncı da hızla artmaktadır. Bu sırada kollajen yapı, hızlı artan ekspansil kuvvetleri taşımaktadır. Kollajen taşıma kapasitesini aşan durumlarda, kollajen yapıda

destrüksiyon meydana gelmektedir. Bu da matriks bileşenlerinin (GAG gibi) kaybına yol açmaktadır. Bu çalışmada ayrıca egzersiz sonrası 4 ve 8 haftalarda sinovyal sıvı belirteç düzeyleri ölçümlerinde, MMP- 3, MMP- 1 ve TIMP- 1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. 8 hafta sonra elde edilen belirteç düzeylerinin, 4 hafta sonraya göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışma, gerek tavşanlarda yapılmış olması gerek zıplama egzersizleri modelinin kullanılmış olması ile farklılıklar göstermektedir. Ancak çalışmamızda travma öyküsü olan olgularda sinovyal sıvıda proteoglikan fragman düzeylerinde artış olmaması bu çalışmadaki sonuçları desteklememektedir. Nishida ve arkadaşları (82), köpeklerde yaptıkları deneysel menisküs yırtıkları sonrası farklı dönemlerde histopatolojik ve biyokimyasal inceleme yapmışlardır. Menisküs yırtığından 12 hafta sonra yaptıkları histopatolojik incelemelerde menisküslerde fibrokondrosit benzeri hücrelerin proliferasyonu olduğunu görmüşlerdir. Bu çalışmada deneysel menisküs yırtığı sonrası 2- 24 haftalar arasında, menisküslerde keratan sülfat ve kondroitin sülfat içeriğinde anlamlı kayıp olmadığını belirtmişlerdir. Menisküslerdeki fibrokondrositlerin ve onarım sürecindeki hücrelerin glikozaminoglikan sentezleyerek, keratan ve kondroitin sülfat miktarının korunduğunu öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte oluşturulan kova sapı yırtıklarından 48 hafta sonra keratan ve kondroitin sülfatın menisküs dokusunda azaldığını bildirmişlerdir. Kova sapı yırtıklarında kronik dönemde meydana gelen değişiklikleri, yüklenme sonucunda difüzyonun bozularak beslenmenin bozulmasına bağlamışlardır. Beslenme bozulduğunda meniskal hücrelerde meydana gelen değişiklikler nedeni ile glikozaminoglikan sentezinin yapılamadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak keratan ve kondroitin sülfat sentezinin azalmasıyla yıkımının arttığını düşünmüşlerdir. Çalışmamızda sinovyal sıvıdaki proteoglikan fragmanlarının ileri evre mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklarında (B grubu), hafif mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklarına göre (A grubu) anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk. B grubu ile kontrol (C) grubu karşılaştırıldığında proteoglikan fragman düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamasına karşın (p=0.055) bu değer anlamlılığın sınırındadır. Mukoid dejenerasyonda, interstisyumda birikmiş olan proteoglikan fragmanlarının yıkılarak sinovyal sıvıya salındığını ve sinovyal sıvıda proteoglikan fragmanları konsantrasyonunun arttığını düşünmekteyiz. Evreye bakılmaksızın, tüm menisküs yırtıklarına bakıldığında proteoglikan fragman konsantrasyonlarının artmamış olması, mukoid dejenerasyon ileri evrelerinin etken olabileceğini göstermektedir.

Dejeneratif menisküs lezyonlarında genelde spesifik travma öyküsü alınmayabilir. (73,83). Dejeneratif menisküs lezyonlu olgularımızda ağrı, kilitlenme en sık yakınmalardır. Semptom süresi; A grubunda 11.6ay (0.2-36 ay), B grubunda 13.4 ay (4-48ay) olarak

bulundu. Bu sürenin bu kadar uzun olması olasılıkla başlangıçtaki yakınmaların belirgin olmamasına bağlıdır. Zamanla patolojik tablo genişler, menisküs yapısı bozulur ve travmaya karşı duyarlılık artar. Normalde tolere edilebilecek mekanik travmalar ile yapısı bozulmuş olan menisküste kolaylıkla yırtık oluşur. Bu olgularda travmatik yırtıklar kadar ciddi semptomatoloji yoktur. Eklem aralığında sızlama şeklinde başlayan yakınmaların progresyonu için belli bir süre geçmesi, meniskal yapı içindeki patolojinin yaygınlaşması gerekir. Bu durum, dejenerasyonun erken dönemlerinde tanı koyulmasını zorlaştırır.

Smillie' ye göre (72) mukoid dejenerasyon izlenen vakalarda iç menisküste radial, dış menisküste horizontal klivaj yırtıkları sık izlenir. Ferrer- Roca (71) daha çok horizontal klivaj yırtık izlendiğini bildirmiştir. Ancak kliniğimizde yapılan çalışmada (73), mukoid dejenerasyonlu menisküslerde en fazla horizontal- longitudinal yırtık saptanmıştır. Mukoid dejenerasyonun, muhtemelen vertikal yönde uzanım gösteren az sayıdaki kollajen liflerinin yapısını bozduğu ve bu liflerin alt ve üst yüzünde uzanan radial lifleri bağlayıcı fonksiyonunun kaybolması ile horizontal klivaj oluştuğu belirtilmiştir. Çalışmamızda, kliniğimizde yapılan önceki çalışmayı (73) destekleyecek şekilde, Evre 3 mukoid dejenerasyonlu menisküslerde en sık longitudinal yırtık izlenmiştir. Hastaların çoğunda yırtıklar iç menisküsün arka boynuz ve orta-arka 2/3'lük bölümüne lokalize idi. İç menisküs arka boynuzunun dış menisküse göre daha az mobilite göstermesi, onu daha fazla mekanik streslere maruz bırakır; yapısal olarak zayıflamış menisküs bu mekanik streslerin etkisi ile kolayca yırtılabilir.

Mukoid dejenerasyon etiyojisi henüz açık değildir. Mukoid dejenerasyon, bağ dokuda glikoprotein ve mukoprotein içeren ara madde artışı ile karakterize dejeneratif bir lezyondur (24). İnterstisyel dokuda aşırı proteoglikan birikimi görülmektedir (77). Yapılan literatür taramalarında etiyojisinin net olarak ortaya konmadığı anlaşılmıştır. Menisküsteki mukoid dejenerasyonun etiyojisinden endojen veya ekzojen travmanın sorumlu olabileceği bildirilmiştir (72,77). Travmaya ek olarak, nutrisyonel defektlere sekonder mukopolisakkarid akümülyasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir (72). Başka bir çalışmada (76), grade 1 değişikliklerin asemptomatik bireylerde sık olduğu belirtilmiştir. Lindström (84) lezyon içi veya çevresinde, mikroskopik olarak hemorajik materyal ürünlerinin bulunmadığını ve bu nedenle mukoid dejenerasyonun etiyojisinden travmanın sorumlu olmayabileceğini öne sürmüştür. Bilinmeyen bazı faktörlerin yol açtığı mukoid dejenerasyon patolojisinin travmanın etkisi ile agra ve olabileceğini belirtmiştir. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada (73), travmanın menisküs mukoid dejenerasyonu ile ilişkisi bulunmamıştır. Bu çalışmada, daha önce (71) öne sürülen kronik enfeksiyon teorisi de dışlanmıştır. Günümüzde genetik

bilimindeki gelişmeler sonrasında birçok hastalığın temelinde genetik faktörlerin rol aldığı gösterilmiştir. HLA kompleks antijenleri ile birçok hastalık arasında ilişki bilinmektedir. Kliniğimizdeki çalışmada, mukoid dejenerasyon ile HLA DR17 ve HLA DQ3 antijenleri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (73). Bu durum patolojik tablonun temelinde genetik faktörlerin rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Ishiguro ve arkadaşları (38), ÖÇB yırtığı olan olgularda, yırtık ligamanın MMP- 1, MMP- 2, MMP- 3 ve TIMP- 1, TIMP- 2 sentezlediğini bildirmişlerdir. Yırtık ÖÇB hücrelerinin biyolojik reaksiyonunun normal onarım süreci veya hızlı enzimatik yıkım sürecinden biri olabileceğini belirtmişlerdir. Matriks metalloproteinazlar ve metalloproteinaz inhibitörlerini, yırtık ön çapraz bağ güdüğünde gözlemişlerdir. ÖÇB güdüğüne makrofajların migre olduğunu, MMP'ları ve TIMP'lerin sentezlendiğini düşünmüşlerdir. Bu görüşle ilintili olarak, mukoid dejenerasyonlu menisküslerden sinovyal sıvıya yıkıcı biyokimyasal belirteçlerin salınabileceğini düşündük. Çalışmamızda menisküs doku örneklerinde değil, sinovyal sıvıda biyokimyasal belirteç düzeylerini inceledik. Beklediğimiz tersine, sinovyal sıvıda MMP- 3 konsantrasyonunda anlamlı yükseklik saptamadık. Mukoid dejenerasyon evresi ile orantılı olarak sinovyal sıvıda proteoglikan fragmanlarındaki anlamlı yükseklik ise beklediğimiz bir sonuçtu. Öte yandan Menetrey ve arkadaşları (11), ön çapraz bağ greftlerinin yetersizlikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, operasyon sonrası artmış kıkırdak matriks metabolizması biyokimyasal belirteçlerinin greftin biyolojik yetersizliğine neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. MMP- 3, (Matriks metalloproteinaz- 3), TIMP- 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase -1), IL- 6 (interlökin- 6) ve IL-8 (interlökin- 8), TNF-alfa (Tümör Nekroz Faktör-alfa), IL-1 (interlökin- 1) travma sonrası olduğu gibi, ÖÇB rekonstrüksiyonu sonrası da artmaktadır. Bu değişikliklerin yeni olan greft için uygunsuz ortam oluşturarak, greftte genişlemiş nekroz, mikroid dejenerasyon ve karmaşık neovaskülarizasyon süreci ile sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir. Tüm bu değişikliklerin greft yetmezliğinden sorumlu olabileceğini düşünmüşlerdir (11). Bu çalışma ışığında menisküs mukoid dejenerasyon etiolojisinde kıkırdak matriks metabolizması belirteçlerinin rolü olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Ancak mukoid dejeneratif menisküs lezyonu olan olguların sinovyal sıvılarında MMP- 3 düzeylerinde anlamlı yükseklik saptamadık. Çalışmamızda, ileri evre mukoid dejenerasyonlu menisküs yırtıklı olgularda sinovyal sıvıda proteoglikan fragmanlarında anlamlı yükseklik saptadık.

Lohmander ve arkadaşları (5), ÖÇB ve menisküs yırtıklı dizlerde, diz eklemi sinovyal sıvısında, COMP ve agrekan fragmanlarının konsantrasyonunun yükseldiğini göstermişlerdir. Her iki belirteç düzeyinin, travma sonrası saatler içinde yükseldiğini, zamanla azaldığını,

ancak 20 yıl sonra bile kontrol grubuna göre yüksek kaldığını belirtmişlerdir. Çalışmada, izole menisküs yırtıklı olgu sayısının yetersizliği nedeni ile ÖÇB ve izole menisküs yırtığı arasında COMP salınımı açısından karşılaştırma yapılamamıştır. Yazarlar sinovyal sıvıda agrekan fragmanları, COMP ve diğer kıkırdak matriks moleküllerinin yüksek konsantrasyonunun, olasılıkla matriks yıkımının artmasına, ayrıca kondrositlerin onarım sürecine katılması ile turn over' ın artmasına bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Kronik faz belirteç konsantrasyonları ile osteoartrit gelişim riski arasında ilişkiyi göstermek için uzun dönem çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan başka bir çalışmada yeni tanı almış romatoid artritli hastalarda, sinovyal sıvıda artmış agrekan fragman konsantrasyonunun, ileri dönemde yüksek derecede eklem destrüksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (70). Lohmander ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında (3), ÖÇB ve menisküs yırtıklarında sinovyal sıvıda MMP-3 (stromelysin -1) ve TIMP- 1 konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir. Bunun da kondrositler ve sinovyal hücrelerden TIMP-1 ve MMP- 3 sentezinin artmasına bağlı olabileceğini varsayımlardır. Belirteç düzeylerindeki artışın, sırası ile, eklem instabilitesine bağlı yüklenme paternindeki değişikliklere, eklem içi kanama ile tetiklenen sinovite ve bilinmeyen diğer faktörlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. ÖÇB ve menisküs yırtıklarında, kronik dönemde TIMP- 1 ve MMP- 3 konsantrasyonu kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çalışmada, travmadan 1- 6 ay sonra, ÖÇB yırtıklı olgularda ortalama MMP- 3 konsantrasyonunun, menisküs yırtıklı olgulara göre iki kat fazla olduğunu bulmuşlardır. Bu sonucun ÖÇB yırtıklarında eklem içi kanama ve meydana gelen sinovite ile ilişkili olduğunu düşünmüşlerdir. ÖÇB yırtıklı ve menisküs yırtıklı olgular karşılaştırıldığında, kronik dönemde MMP-3 ve TIMP-1 konsantrasyonlarının benzer olduğu ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Buna dayanarak her iki lezyonda, uzun dönemde benzer kondrosit ve sinovyal hücre yanıtı olduğuna işaret etmişlerdir. Literatürde araştırdığımız kadarı ile çalışmamız sadece izole menisküs yırtıklarının dahil edildiği ilk klinik çalışmadır. Ayrıca, histopatolojik olarak kanıtlanmış mukoid dejenerasyon zemininde gelişmiş menisküs yırtıklarında diz eklemi sinovyal sıvısındaki biyokimyasal belirteçlerin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda bilinen travma öyküsü olmayan A ve B grubundaki menisküs yırtıklı olgularda (n=21) kontrol (C grubu) ile karşılaştırıldığında, MMP-3 konsantrasyonları arasında fark saptanmadı (p=0.197). A ve B grubundaki travmalı olgular (n= 11) ile kontrol grubu karşılaştırıldığında travma öyküsü olan olgularda sinovyal sıvıda MMP- 3 konsantrasyonunun anlamlı olarak yükseldiğini bulduk (p=0.025). Travma öyküsü olan veya olmayan tüm menisküs yırtıklı olgularda (A+B Grubu, n=32), MMP-3 düzeylerinin, kontrol (C) grubu ile karşılaştırıldığında yine anlamlı fark bulunmadı (p=0.068). Ancak bu

değerlendirmede p değerinin ($p=0.068$) istatistiksel anlamlılık sınırına yaklaştığını görmekteyiz. Bunun nedeni de bu grup içinde bulunan travma öyküsü olan menisküs yırtıklı olgular olduğunu düşünmekteyiz. Bu sonuçlar menisküs yırtığına oranla, travmanın MMP-3 düzeylerine belirgin etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu bulgulara dayanarak travmalı dizlerde eklem kıkırdak hasarının daha fazla olduğunu öne sürebiliriz. Ancak önceki çalışmaların tersine, COMP düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptamadık. Yapılan çalışmalarda, COMP düzeyinin travma sonrası 1- 2 yıl içinde normal seviyesine inebileceği gösterilmiştir (1,3,71). Çalışmamızdaki COMP düzeyi ile ilgili bulgular buna bağlı olabileceği gibi travma süresine ilişkin heterojeniteye ve olguların semptomsuz olmasına da bağlı olabilir. Müller ve ark. (49) , konnektif doku hastalıklarında, COMP'un güvenilir olmadığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda menisküs yırtıklı olgular (A ve B grubu) ile kontrol grubu (C grubu) arasında, proteoglikan fragman düzeyleri açısından anlamlı farklılık izlenmedi. Dahlberg ve arkadaşları (9), travma sonrası kronik dönemde agrekan fragmanları konsantrasyonunda, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmaya, belirgin diz fonksiyon bozukluğu ve ağrısı olmayan hastalar dahil edilmiş olup bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Ayrıca eklem kıkırdak metabolizmasının diz instabilitesi olan olgularda ılımlı semptomları olan olgulara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kronik ve akut dönemde MMP-3 ile agrekan fragmanları konsantrasyonları arasında, Lohmander ve ark.'nın çalışmasının tersine (3), anlamlı korelasyon olmadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda travma süresine göre çalışma grubu heterojen olup, kronik dönemdeki olgular nedeni ile agrekan fragman konsantrasyonunda anlamlı farklılık saptanmamış olabilir. Ayrıca olgularımızda diz instabilitesi bulunmamaktaydı ve semptomları ılımlı idi. Bu nedenle travma sonrası, proteoglikan fragmanları düzeyinde anlamlı farklılık gösteremediğimizi düşünmekteyiz. Dahlberg ve ark., kronik fazda da yüksek bulunması nedeni ile MMP- 3' ün eklem patolojilerinde çok yüksek duyarlılığı olduğunu belirtmişlerdir. Bizim araştırmamızda da, travma öyküsü olan olgularda sadece MMP-3' ün anlamlı yüksek olması MMP- 3' ün duyarlı belirteç olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda A ve B grubunda MMP- 3 ve TIMP- 1 arasında çok güçlü pozitif korelasyon olduğunu gösterdik. MMP-3 konsantrasyonunun arttığı durumlarda TIMP- 1 konsantrasyonunun da arttığını saptadık. Higuchi ve arkadaşları (7), çalışmamızı destekler şekilde ÖÇB ve menisküs yırtıklı olgularda, sinovyal sıvıda MMP- 3 ve TIMP- 1 konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada MMP- 3 ve TIMP- 1 konsantrasyonları arasında güçlü pozitif korelasyon olduğunu

göstermişlerdir ($p < 0.001$). Bu bulgu, TIMP' ların MMP enzim aktivitesini ve MMP/ TIMP dengesini kontrol altında tuttuğunu göstermektedir (66).

Dahlberg ve arkadaşları (10) , diz travması olan hastalarda, travması olmayan karşı dizden de sinovyal sıvı örnekleri alarak biyokimyasal belirteç düzeylerini araştırmışlardır. Travma sonrası erken ve geç dönemde, travmasız dizde de agrekan fragmanları, COMP ve MMP- 3 konsantrasyonunun yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgular sonucunda, travmasız tarafta da değişmiş matriks metabolizmasının olduğunu düşünmüşlerdir. Tek taraflı diz travması olan hastalarda travmasız tarafta kıkırdak matriks metabolizmasını etkileyebilecek birkaç faktör öne sürülmüştür. Biyomekanik analizlerle, ÖÇB yırtıklı olgularda antalgik manevralar (85) ve her iki bacakta performans testlerinde yetersizlik (86) ortaya konmuştur. Hastalıklı eklemden salınan matriks yıkım ürünleri ve sitokinlerin, dolaşım ile sağlıklı dizlere ulaşarak, sağlıklı dizlerde patolojik sürecin erken başlangıcında rol oynayabileceği bildirilmiştir (87). Ancak COMP' in serumda düşük konsantrasyonda bulunması bu olasılığın düşük olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada karşı dizden sinovyal sıvı örnekleri ile oluşturulan kontrol grubunun sağlıklı olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda, travmasız karşı dizin kontrol grubu olarak kullanılmasının sağlıklı olduğunu bildiren (10) bu çalışmanın tersine MMP- 3 değerleri arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptadık. Karşı dizden oluşturulan kontrol grubuna göre travmalı olgularda MMP- 3 konsantrasyonlarında anlamlı farklılık bulunması nedeni ile karşı dizin kontrol grubu olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda ileri evre mukoid dejenerasyon evresi ile sinovyal sıvı proteoglikan fragman konsantrasyonunun ilişkili olduğunu bulduk. Artmış proteoglikan fragmanları mukoid dejenerasyonun nedeni veya sonucu olabilir. Menisküs mukoid dejenerasyonu, dizin genelinde bir dejeneratif süreç ile ilişkili olduğu öne sürülebilir. Çalışmamız “proteoglikan fragmanları mukoid dejenerasyon etiyojisinde rolü olabilir mi?”, “ mukoid dejenerasyon ile birlikte olan yüksek proteoglikan fragman düzeyi osteoartrit sürecine katkıda bulunur mu?” gibi sorulara yanıt açısından gelecek çalışmalara temel oluşturabilir.

8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Mukoid dejenerasyon evresi arttıkça sinovyal sıvı proteoglikan fragman konsantrasyonunun arttığı gösterildi. Bu sonuç, mukoid dejenerasyonlu menisküs interstisyumunda aşırı birikmiş olan proteoglikan fragmanlarının sinovyal sıvıya salınmasına bağlı olabilir. Böylece, mukoid dejenerasyonun diz eklemine olumsuz ortam oluşturduğu söylenebilir veya bunun tersine, dizin dejeneratif ortamı mukoid dejenerasyon oluşumunda rol oynayabilir.

2. Sinovyal sıvıdaki MMP-3 düzeyini etkileyen temel faktör menisküs yırtığı değil, travmadır.

3. Travma öyküsü olan/olmayan menisküs yırtıklarında, MMP- 3 ve TİMP- 1 konsantrasyonları arasında olumlu, çok güçlü ve anlamlı korelasyon vardır. Bu da, TİMP' ların MMP enzim aktivitesini ve MMP/ TİMP dengesini kontrol altında tuttuğunu göstermektedir. Bu sonuca dayanarak, metalloproteinaz inhibitörlerinin osteoartrit gelişimini engellemek için tedavide kullanılabilmesi amacı ile çalışmalara ihtiyaç vardır.

4. Elde ettiğimiz verilere dayanarak, “proteoglikan fragmanları mukoid dejenerasyon etiolojisinde rolü olabilir mi?”, “ mukoid dejenerasyon ile birlikte olan yüksek proteoglikan fragman düzeyi osteoartrit sürecine katkıda bulunur mu?” sorularına yanıt verebilecek yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. KAYNAKLAR

1. Lohmander L S, Dahlberg L, Ryd L, et al. Increased levels of proteoglycan fragments in joint fluid after knee injury. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1434- 42
2. Lohmander S, Hoerner L A, Lark M W. Metalloproteinases, tissue inhibitor and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:181-9
3. Lohmander L S, Roos H, Dahlberg L, et al. Temporal patterns of stromelysin-1, tissue inhibitor of metalloproteinases and proteoglycan fragments in human knee joint fluid after cruciate ligament and meniscus injury. *J Orthop Res* 1994; 12: 21-8
4. Lohmander L S, Hoerner L A, Dahlberg L, et al. Stromelysin, tissue inhibitor of metalloproteinases and proteoglycan fragments in human knee joint fluid after injury. *J Rheumatol* 1993; 20: 1362-8
5. Lohmander L S, Saxne T, Heinegard DK. Release of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) into joint fluid after injury and in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 8-13
6. Kujala UM, Kuttunen J, Paananen H, et al. Knee osteoarthritis in former runners, soccer players, weight lifters and shooters. *Arthritis Rheum.* 1995; 38:539-546
7. Higuchi H, Shirakura K, Kimura M, et al. Changes in biochemical parameters after anterior cruciate ligament injury. *International Orthopaedics* 2006; 30: 43-47
8. Lohmander LS, Englund PM, Dahl LL, et al. The long -term consequence of anterior cruciate ligament and meniscus injuries: Osteoarthritis. *Am J Sports Med* 2007; 35: 1756-1769
9. Dahlberg L, Friden T, Roos H, et al. A longitudinal study of cartilage matrix metabolism in patients with cruciate ligament rupture- synovial fluid concentrations of aggrecan fragments, stromelysin- 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase- 1. *British Journal of Rheumatology* 1994; 33: 1107- 1111
10. Dahlberg L, Roos H, Saxne T, et al. Cartilage metabolism in the injured and uninjured knee of the same patient. *Ann Rheum Diseases* 1994; 53: 823- 827
11. Menetrey J, Duthon VB, Laumonier T, et al. “Biological failure” of the anterior cruciate ligament graft. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16: 224- 231
12. Clarc CR, Ogden JA. Development of the menisci of the human knee joint. *J Bone Joint Surg* 1983; 65(A):538-547

13. Gardner E, Orahilly R. The early development of the knee joint in the staged human embryos. *J Anat* 1968; 102: 289-299
14. Cameron H U, Macnab I. The structure of the meniscus of the human knee joint. *Clin Orthop* 1972; 89: 215-219
15. Kaplan A, Elhan A. *Anatomi. 1. Cilt.* Ankara 1995; 148- 149
16. Swiontkowski MF, Schlehr F, Sanders R, et al. Direct, real time measurement of meniscal blood flow. *Am J Sports Med* 1988; 16:429
17. Aydın AT. Diz eklemi anatomisi. In Tandoğan NR, Alpaslan AM (ed): *Diz cerrahisi.* Ankara 1999; Bölüm 2; 5- 18
18. Fithian DC, Kelly MA, Mow VC. Material properties and structure-function relationships in the menisci. *Clin Orthop.* 1990; 252: 19- 31
19. McDevitt CA, Webber RJ. The ultrastructure and biochemistry of meniscal cartilage. *Clin Orthop.* 1990; 252:8- 19
20. Arnoczky SP, Warren RF, Spivak JM. Meniscal repair using exogenous fibrin clot: an experimental study in dogs. *J Bone Joint Surg Am.* 1988;70: 1209- 1217
21. Ingman A, Ghosh P, Taylor T. Variations of collagenous and non-collagenous proteins of human knee joint with age and degeneration. *Gerontology.* 1974; 20: 212-233
22. Peters TJ, Smillie IS. Studies on the chemical composition of the menisci of the knee joint with special reference to the horizontal cleavage lesion. *Clin Orthop.* 1972; 86: 245-252
23. De Haven KE, Arnoczky SP. Meniscus repair: Basic science, indications for repair, and open repair. In: Schafer M (ed). *Instructional Course Lectures.* 1994; 43: 65-76
24. Ferrer-Roca O, Vilalta C: Lesions of the meniscus. Part I: Macroscopic and histologic findings. *Clin Orthop* 1980; 146: 289- 300
25. Pınar H. Menisküs; anatomi ve propriosepsiyon. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 1997; 31: 392-396
26. Seedholm BB, Hargreaves DJ. Transmission of load in the knee joint with special reference to the role of menisci. II. *Eng Med* 1979; 8: 220-8
27. Wong M, Hunziker EB. Articular cartilage biology and biomechanics. In Insall JN, Scott WN (ed). *Surgery of the knee.* Third edition. Churchill Livingstone. Philadelphia 2001; 317-325
28. Poole AR. Can serum biomarker assays measure the progression of cartilage degeneration in osteoarthritis? *Arthritis Rheum Dis* 2002; 46: 2549-52

29. Taşkıran D. Kıkırdak yaralanması ve onarımında biyokimyasal süreçler. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007; 41 Suppl 2: 6-12
30. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491- 4
31. Hasty KA, Reife RA, Kang AH, et al. The role of stromelysin in the cartilage destruction that accompanies inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 388-97
32. Naito K, Takahashi K, Kushida K, et al. Measurement of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP- 1) in patient with knee osteoarthritis: comparison with generalized osteoarthritis. *Rheumatology* 1999; 38: 510- 515
33. Upton ML, Chen J, Setton LA. Region- specific constitutive gene expression in the adult porcine meniscus. *J Orthop Res* 2006; 24: 1562- 1570
34. Wu JJ, Lark MW, Chun LE, et al. Sites of stromelysin cleavage in collagen types II, IX, XI of cartilage. *J Biol Chem* 1991; 266: 5625- 8
35. Poole AR, Kobayashi M, Yasuda T, et al. Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: Suppl 2: ii78-81
36. Taşkıran D, Stefanovic – Racic M, Georgescu HI, Evans CH. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin 1. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200:142-8
37. Docherty AJP, O’ Connell J, Crabbe T, et al. The matrix metalloproteinases and their inhibitors: aspects for treating degenerative tissue diseases. *Trends Biotechnol* 1992;10: 200-7
38. Ishiguro N, Shimizu T, Ito T, et al. The expression of matrix metalloproteinases and inhibitors in acute rupture of the anterior cruciate ligament. *Mod Rheumatol* 2000;10:96- 102
39. Li DQ, Meller D, Liu Y, et al. Overexpression of MMP-1 and MMP-3 by cultured conjunctivochalasis fibroblasts. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2000; 41: 404- 410
40. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90: 251-262
41. Murphy G, Cockett MI, Stephens PE, et al. Stromelysin is an activator of procollagenase: a study with natural and recombinant enzymes. *Biochem J* 1987; 248: 265- 8
42. Ogata Y, Enghild JJ, Nagase H. Matrix metalloproteinase- 3(stromelysin) activates the precursor for the human matrix metalloproteinase 9. *J Biol Chem* 1992; 267: 3581- 4

43. Okada Y, Shinmei M, Tanaka O, et al. Localization of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) in osteoarthritic cartilage and synovium. *Lab Invest* 1992; 66: 680- 690
44. Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patient with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 455- 461
45. Heinegard D, Oldberg A. Structure and biology of cartilage and bone noncollagenous macromolecules. *FASEB J* 1989; 3: 2042- 2051
46. Heinegard D, Rosa- Pimentel E. Cartilage matrix proteins. In: Kuettner K, Schleyerbach R, Peyron JG and Hascall VC (eds). *Articular Cartilage and Osteoarthritis*. Raven Press New York 1992; pp. 95-101
47. Fife RS. Identification of link proteins and 110.000- dalton matrix protein in canine meniscus. *Arch Biochem Biophys*. 1985; 240:682-688
48. Fife RS, Brandt KD. Identification of a high- molecular- weight (>400.000) protein in hyaline cartilage. *Biochem Biophys Acta* 1984; 802: 506-514
49. Müller G, Michel A, Altenburg E. COMP (Cartilage Oligomeric Matrix Protein) is synthesized in ligament, tendon, meniscus and articular cartilage. *Connective Tissue Research* 1998; 39(4): 233-244
50. Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, et al. Cartilage matrix protein. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Biol Chem* 1992; 267: 6132-6136
51. Nguyen BQ, Fife RS. Vitreous contains a cartilage- related protein. *Exp Eye Res* 1986; 43: 375-382
52. DiCesare PE, Hauser N, Lehman D, et al. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS Lett* 1994; 354: 237- 240
53. Garnero P, Rousseau JC, Delmas PD. Molecular basis and clinical use of biochemical markers of bone, cartilage, and synovium in joint diseases. *Arthritis and Rheumatism* 2000; 43 (5): 953- 968
54. Recklies AD, Baillargeon L, White C. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 997- 1006
55. DiCesaire PE, Carlson CS, Stollerman ES, et al. Expression of cartilage oligomeric matrix protein by human synovium. *FEBS Lett* 1997; 412: 249-252
56. DiCesare PE, Mörgelin M, Carlson CS, et al. Cartilage oligomeric matrix protein: Isolation and characterization from human articular cartilage. *J Orthop Res* 1995; 13: 422-428

57. Mörgelin M, Heinegard D, Engel J, et al. Electron microscopy of native cartilage oligomeric matrix protein purified from Swarm rat chondrosarcoma reveals a five- armed structure. *J Biol Chim* 1992; 267: 6137-6141
58. Fife RS, Hook GL, Brandt KD. Topographic localization of a 110.000 dalton protein in cartilage. *J Histochem Cytochem* 1985; 33: 127- 133
59. Fife RS, Hook GL, Smith GN. Evidence for the interaction of a 550 kilodalton cartilage protein with collagen. *Clin Res* 1985; 33: 840 A
60. Heinegard D, Lorenzo P, Saxne T. Matrix glycoproteins and proteoglycans in cartilage. In Kelley' s textbook of Rheumatology Edited by: Haris ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Ruddy S Philadelphia; Elsevier Saunders 2005; 48-62
61. Andersson MLE, Thorstensson CA, Roos EM, et al. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) increase temporarily after physical exercise in patient with knee osteoarthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2006; 7: 98
62. Carlsen S, Hansson AS, Olsson H, et al. Cartilage oligomeric matrix protein- induced arthritis in rats. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 477- 484
63. Briggs MD, Hoffman SM, King LM et al. Pseudocondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia due to mutations in cartilage oligomeric matrix protein gene. *Nat Genet* 1995; 10: 330- 6
64. Forslind K, E.K, Jonsson A, et al. Increased serum concentrations of cartilage oligomeric matrix protein. A prognostic marker in early rheumatoid arthritis. *Brit J Rheumatol* 1992; 31: 593- 598.
65. Sharif M, Saxne T, Shepstone L, et al. Relationship between serum cartilage oligomeric matrix protein levels and disease progression in osteoarthritis of the knee joint. *Brit J Rheumatol* 1995; 34: 306- 310
66. Lambert E, Dasse E, Hayye B, et al. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49: 187- 98
67. Murray RK. Proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar. In: Harper' ın biyokimyası. 1993; 758- 763
68. Souza- Fernandes AB, Pelosi P, Rocco PRM. Bench- to- bedside review: The role of glycosaminoglycans in respiratory disease. *Critical Care* 2006; 10: 237
69. Dudhia J. Aggrecan, aging and assembly in articular cartilage. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62; 2241- 2256
70. Saxne T, Wollheim FA, Pettersson H, et al. Proteoglycan concentration in synovial fluid: predictor of future cartilage destruction in rheumatoid arthritis? *BMJ* 1987; 295:1447- 8

71. Ferrer- Roca O, Vilalta C. Lesions of the meniscus. Part II: Horizontal cleavages and lateral cysts. *Clin Orthop* 1980; 146: 301- 307
72. Smillie IS. Surgical pathology of the menisci. In Smillie IS (ed): *Injuries of the Knee Joint*, ed. 5. New York 1978: 83- 99
73. Boya H, Pınar H, Gülay Z, et al. Clinical and arthroscopic features of meniscal tears and a search for the role of infection in histologically confirmed meniscal mucoid degeneration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004; 12: 294- 299
74. Stoller DW. Magnetic resonance imaging of the knee; meniscal degenerations and tears. In Stoller DW (ed): *Magnetic Resonance Imaging in Orthopaedics & Sports Medicine*. Ed. 2. , New York, Lippincott Williams & Wilkins 1997; 257- 262
75. Crues JV, Stoller DW. The menisci. In: Mink JH, Reicher MA, Crues JV, Deutsch AL, eds. *MRI of the knee*. New York: Raven Press, 1993; 91
76. Kornick JK. Meniscal abnormalities in the asymptomatic population at MR imaging. *Radiology* 1990; 177: 463
77. Walter JB, Talbot IC. Connective tissue: its normal structure and its effects of disease. In Walter and Israel (ed). *General Pathology*. Edinburg 1996: 103- 116
78. Burtis C.A, Ashwood R.E, Moss D.W, et al. *Klinik Kimyada Temel İlkeler*, 2005;157- 176, Palme Yayıncılık, Ankara
79. Punzi L, Oliviero F, Plebani M. New biochemical insights into the pathogenesis of osteoarthritis and the role of laboratory investigations in clinical assessment. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2005; 42: 279- 309
80. Woitge HW, Seibel MJ. Molecular markers of bone and cartilage metabolism. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 218- 225
81. Chang Q, Huang C, Huang Z. Matrix metalloproteinases and inhibitor in knee synovial fluid as cartilage biomarkers in rabbits: The effect of high- intensity jumping exercise. *Journal of Surgical Research* 2007; 140: 149- 157
82. Nishida M, Higuchi H, Kobayashi Y, et al. Histological and biochemical changes of experimental meniscus tear in the dog knee. *J Orthop Sci* 2005; 10: 406-413
83. Smillie IS. Clinical features of the internal deragments relative to the menisci; cystic degeneration. In Smillie IS (ed): *Injuries of the Knee Joint*, ed 5. New York, Churchill Livingstone 1978: 128- 130
84. Lindström A. Trauma and ganglia of the semilunar cartilages of the knee. *Acta Orthop Scand* 1950; 23: 237-246

85. Murray MP, Giore DR, Sopic S, et al. Antalgic manoeuvres during walking in men with unilateral knee disability. *Clin Orthop* 1985; 199: 192- 9
86. Gauffin H, Petterson G, Tegner Y, et al. Function testing in patients with old rupture of the anterior cruciate ligament. *Int J Sports Med* 1990; 11; 73- 77
87. Floman Y, Eyre DR, Glimcher MJ. Induction of osteoarthritis in the rabbit knee joint. *Biochemical studies on articular cartilage. Clin Orthop* 1980; 147: 278- 286

10. EK-1

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK VE LABORATUVAR ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

Tarih ve Sayı: 03.07.2008/ 293

Etik Kurul Üyeleri

Prof.Dr.Taner ÇAMSARI
Prof.Dr.Tunç ALKIN
Prof.Dr.Mustafa SEÇİL
Prof.Dr.Ayça Arzu SAYINER
Doç.Dr.M.Hakan ÖZDEMİR
Doç.Dr.Vesile ÖZTÜRK
Doç.Dr.Murat DUMAN
Doç.Dr.Güven ASLAN
Yard.Doç.Dr.Murat ÖRMEN
Öğr.Gör.Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN
Yunus KARSLI

Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Taner ÇAMSARI

Etik Kurul Sekreteri

Hatice İĞCİ

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Etik Kurulumuzun 03 Temmuz 2008 tarih ve 22/15/2008 no.lu toplantısında; 294/2008 Protokol numaralı Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Halit PINAR'ın proje yöneticisi ve Dr.Oktay İŞÇEN'in sorumlusu olduğu, "Menisküs yırtıklarında mukoid dejenerasyonun evresi ile eklem sıvısındaki biyokimyasal belirteç düzeylerinin arasında ilişki var mıdır?" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



Prof. Dr.Taner ÇAMSARI
Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları
Etik Kurul Başkanı