



T.C.

**AFYONKARAHİSAR SAĞLIK
BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN
HASTALARDA TÜM MİTOKONDRIYAL
DNA DİZİLEME ANALİZİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Arş. Gör. Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI**

DANIŞMAN

**Prof. Dr. Özal ÖZCAN
AFYONKARAHİSAR 2022**

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN
HASTALARDA TÜM MİTOKONDRIYAL
DNA DİZİLEME ANALİZİ

Arş. Gör. Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Komisyonu
tarafından 20.TUS.010 proje numarası ile desteklenmiştir.

2022 - AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER



KABUL VE ONAY

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: Dejeneratif Menisküs Yırtığı Olan Hastalarda Tüm Mitokondriyal DNA Dizileme Analizi

Tezi Hazırlayan: Arş. Gör. Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER

Tez Savunma Tarihi: 22.09.2022

Tez Kabul Tarihi: 22.09.2022

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özal ÖZCAN

İş bu çalışma, jürimiz tarafından ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Üye

Prof. Dr. Gökhan MARALCAN

Üye

Doç. Dr. Bahattin Kerem AYDIN

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Tecrübe ve bilgisinden yararlanmaktan onur duyduğum, aynı zamanda tez danışmanım olan Prof. Dr. Özal ÖZCAN'a; uzmanlık eğitimimde büyük emekleri olan, eğitim süresince bilgi ve deneyimlerini daima benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Gökhan MARALCAN'a, Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA'ya ve Dr. Öğr. Üy. Murat YEŞİL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında bana büyük destekleri olan, hiçbir konuda yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN'a, Doç. Dr. Serdar CEYLANER'e, Prof. Dr. İsmet DOĞAN'a ve Uzm. Dr. Başak GÖĞÜŞ'e ve Biyolog Haktan DOĞUŞ'a teşekkür ederim.

Geçmiş zamanda beraber aynı klinikte çalışma fırsatı bulduğum ağabeylerim; Op. Dr. Sadık Emre ERGİNOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Recep ALTIN, Op. Dr. Uğur YÜZÜGÜLDÜ, Op. Dr. Mohamed Salah Ahmed Ali, Dr. Mustafa Reha Dodurgalı'ya, tez çalışmalarım süresince birlikte çalışmaktan gurur duyduğum Op. Dr. Bilge Kağan YILMAZ'a, bir ömür yetecek kadar güzel anılar biriktirdiğim eş kıdemlilerim Op. Dr. Çağlar Tuna ISSI ve Op. Dr. Turan NAJAFOV'a teşekkürlerimi sunarım. Aynı klinikte yıllarca birlikte çalışmaktan gurur duyduğum asistan hekim kardeşlerim; Dr. Erdal KESKİN, Dr. Mohamed Hamid SHİRZAD, Dr. Sakhı Ahmad FAZLİ, Dr. Osman Emre TOSUN, Dr. Serkan SAVAŞ, Dr. Halil Sami POSTALLI, Dr. Oğuz ŞİMŞEK, Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE, Dr. Fatih AY, Dr. Ramazan KAPLAN, Dr. Musa Can ÇELİKBAŞ, Dr. Osman ŞAN, Dr. Yunus CANDAS, Dr. Fatih KAN ve Dr. Oğulcan GÖZ'e teşekkür ederim.

Tüm ameliyathane ve servis hemşire ve personeline,

Bugünlere gelmemde en büyük emek sahibi canım ailem; babam Mehmet BÜTÜNER, annem Nadire BÜTÜNER, ablam Dr. Hidayet İlknur KURTOĞLU ve kız kardeşim Merve BÜTÜNER'e ; her konuda desteğini, sevgisini ve güvenini esirgemeyen sevgili eşim Aslı BÜTÜNER'e ve bu dünyadaki en değerli hazinem olan oğlum Mehmet Noyan BÜTÜNER'e teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık tezimi, bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen, rahmetli dedem İbrahim BÜTÜNER'e ithaf ederim.

Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER

Afyonkarahisar, Eylül 2022

DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN HASTALARDA TÜM MITOKONDRIYAL DNA DİZİLEME ANALİZİ

Arş. Gör. Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi
Eylül 2022
Danışman : Prof. Dr. Özal ÖZCAN

ÖZET

Amaç: Menisküs yırtıkları, yürüme fonksiyonu üzerinde olumsuz etkiye neden olan ve sık görülen ortopedik bir durumdur. Menisküs yırtıkları sıklığına göre travmatik, dejeneratif veya konjenital nedenlerden kaynaklanır. Dejeneratif menisküs yırtılmaları her yaşta meydana gelebilmektedir fakat çoğunlukla 45 yaş üstü kişilerde görülür. Dejeneratif menisküs yırtıklarının, menisküs içindeki kollajen liflerin parçalanmaya başlaması ve menisküsün yapısına daha az desteklemesi ile yaşlanma sürecinin bir parçası olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Planlanan çalışmada, sıklıkla görülenin aksine genç bireylerde meydana gelen menisküs yırtılmalarında, hücrel yaşlanmada önemli rol oynayan mitokondrinin etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında, cerrahi operasyon işlemi sırasında herhangi bir ek müdahale gerekmeden ve/veya herhangi bir ek medikal ajan uygulanmadan artroskopik cerrahi girişimi esnasında debridman amaçlı alınan menisküs dokusu ve periferik kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Menisküs dokusu ve periferik kan numunelerinden yeni nesil dizileme yöntemi ile tüm mitokondriyal DNA dizi analizi yapılmıştır.

Bulgular: Numunelerden 29 adet farklı gende 127 adet farklı varyant belirlenmiş ve toplamda 216 adet varyant saptanmıştır. Saptanan bu varyantlardan 187 kadarı benign iken 21 VUS olup 8 kadarı patojenik olarak saptanmıştır. Travmatik grupta toplam 77 adet mtDNA varyant (73 benign, 3 VUS, 1 patojenik), dejeneratif grupta toplam 83 adet mtDNA varyant (65 benign, 13 VUS, 5 patojenik), ön çapraz bağ grubunda ise toplam 56 adet mtDNA varyant (49 benign, 5 VUS, 2 patojenik) saptanmıştır.

Sonuç: Genç yaşta dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalarda predispozan faktörler arasında mtDNA varyantları ve buna bağlı olabilecek bir histolojik erken yaşlanma hipotezinin araştırıldığı çalışmamızda, dejeneratif menisküs yırtığı olan grupta anlamlı olarak mtDNA varyantları belirlendi. Bu bağlamda ileri düzey araştırmalar ile genç yaşta dejeneratif menisküs yırtığına yatkınlığı olabilecek hastalar tespit edilip, dejenerasyon oluşmadan medikal müdahale ile cerrahi tedavi gereksimi azaltılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Menisküs, Mitokondriyal DNA, Yaşlanma, Varyant

WHOLE MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCING ANALYSIS IN PATIENTS WITH DEGENERATIVE MENISCUS REAR

İbrahim Ethem BÜTÜNER

**Afyonkarahisar Health Science University
Faculty of Medicine, Department of Orthopedics And Traumatology, Thesis in
Medicine
September 2022**

Mentor : Prof. Dr. Özal ÖZCAN

ABSTRACT

Objective : Meniscal tears are a common orthopedic condition that negatively affects walking function. According to the frequency of meniscus tears, they are caused by traumatic, degenerative or congenital causes. Degenerative meniscal tears can occur at any age, but mostly seen in people over the age of 45 years. Degenerative meniscus tears are thought to occur as part of the aging process, because of the collagen fibers in the meniscus begin to breakdown and less support the meniscus structure. In the planned study, what is role of mitochondria, which is one of the organelles responsible for aging in the cellular dimension, in meniscal ruptures that occur in young individuals as contrary to often seen, was investigated.

Material and Methods: Within the scope of the study, the meniscus tissue taken for debridement during the arthroscopic surgery used as material without any additional intervention and/or application of any additional medical agents during the surgical operation. Mitochondrial DNA sequencing analysis was performed from samples taken from meniscus tissue and peripheral blood.

Results: From the samples, 127 different variations were determined in 29 different genes and a total of 216 variants were detected. While 187 of these detected variants were benign, 21 were VUS and 8 of them were pathogenic. A total of 77 mtDNA variants (73 benign, 3 VUS, 1 pathogenic) in the traumatic group, 83 mtDNA variants in the degenerative group (65 benign, 13 VUS, 5 pathogenic), and a total of 56 mtDNA variants in the anterior cruciate ligament group (49 benign, 5 VUS, 2 pathogenic) were detected.

Conclusion: In our study, in which we investigated an answer to the question of whether mtDNA mutation and a possible histological premature aging could be among the predisposing factors in patients with degenerative meniscal tear at a young age, in the data we obtained mtDNA mutation was detected significantly in the group with degenerative meniscal tear. In this context, it is thought that with future studies, patients who may be predisposed to degenerative meniscal tears at a young age can be identified and prior to surgical treatment can be reduced by medical intervention before degeneration occurs.

Keywords: Meniscus, Mitochondrial DNA, Aging, Mutation

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TARİHÇE	4
2.2. MENİSKÜS ANATOMİSİ VE NÖROANATOMİSİ	4
2.3. MENİSKÜS EMBRİYOLOJİSİ	8
2.4. MENİSKÜS HİSTOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	8
2.5. MENİSKÜS BESLENMESİ VE İNNERVASYONU	10
2.6. MENİSKÜS BİYOMEKANİK VE İŞLEVSEL ÖZELLİKLERİ	12
2.7. MENİSKÜS YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ	14
2.8. MENİSKÜS YIRTIKLARININ SINIFLAMASI	15
2.9. MENİSKÜS HASARLARINDA KLİNİK BULGULAR VE FİZİK MUAYENE	17
2.10. MENİSKÜS HASARLARINDA GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ	19
2.11. MENİSKÜS HASARLARINDA TEDAVİ.....	21
2.12. MİTOKONDİRİYAL DNA (MTDNA)	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	28
3.2. CERRAHİ PROSEDÜR VE ÖRNEK ALINMASI.....	29
3.3. TÜM MİTOKONDİRİYAL DNA DİZİLEME ANALİZİ.....	34
3.3.1. DNA İzolasyonu	36
3.3.1.1. Kandan DNA İzolasyonu	36
3.3.1.2. Dokudan DNA İzolasyonu	37
3.3.2. MtDNA Amplifikasyonu- Polimeraz Zincir Reaksiyonu	38

3.3.2.1. PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi	39
3.3.2.2. PZR Ürünlerinin Pürifikasyonu.....	40
3.3.3. Tüm MtDNA Dizileme ve Analizi.....	40
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	42
4. BULGULAR	43
4.1. DEMOGRAFİK BULGULAR	43
4.2. TÜM MİTOKONDRIYAL DNA DİZİLEME VE ANALİZ BULGULARI	45
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
7. KAYNAKLAR.....	66



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
ÖÇB	: Ön Çapraz Bağ
AÇB	: Arka Çapraz Bağ
GAG	: Glikozaminoglikan
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik asit
VKİ	: Vücut Kütle İndeksi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
USG	: Ultrasonografi
MAT	: Menisküs Allogreft Transplantasyonu
KK	: Kırmızı Kırmızı
KB	: Kırmızı Beyaz
BB	: Beyaz Beyaz
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
nDNA	: Nüklear DNA
tRNA	: Taşıyıcı RNA
iv	: İntravenöz
PZR/PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
BGOF	: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
GTÖİ	: Genel Temizlik Örtünme İşlemleri
VUS	: Klinik Önemi Belirsiz Varyant (Variants of uncertain significance)
ACMG	: Amerikan Genetik ve Genomik Yüksekokulu (American College of Medical Genetics and Genomics)
NGS	: Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing)
MFC	: Medial Femoral Kondil
LFC	: Lateral Femoral Kondil

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Kullanılan Cihazlar.....	35
Tablo 2. MN NucleoSpin® Blood Kit İçeriği	35
Tablo 3. OneTaq DNA Polymerase Miks İçeriği	36
Tablo 4. Reaksiyon karışımı	38
Tablo 5. Reaksiyon Koşulları	39
Tablo 6. Varyasyon Sınıflaması (120)	42
Tablo 7. A Grubu Demografik Bilgiler	44
Tablo 8. B Grubu Demografik Bilgiler	44
Tablo 9. C Grubu Demografik Bilgiler	45
Tablo 10. Gruplar Arası Varyant Dağılımı.....	45
Tablo 11. A grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar.....	46
Tablo 12. A grubuna Özgü ve Doku Numunesinde Belirlenen Varyantlar	47
Tablo 13. B grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar	47
Tablo 14. B grubuna Özgü ve Doku Numunesinde Belirlenen Varyantlar	48
Tablo 15. B grubuna Özgü, Doku ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar	48
Tablo 16. C grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar	49
Tablo 17. Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı	52
Tablo 18. Tüm Hasta Grupları Numunelerinde Belirlenen Varyantlar	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Menisküslerin üstten görünüşü.	7
Şekil 2.	(a) Sağ diz ekleminin kadavra örneği, posterior görünüm.(b) Sağ diz ekleminin arkadan görünüm. 1: posterior meniskofemoral bağ (Wrisberg ligament). 2: arka çapraz bağ. 3: anterior meniskofemoral bağ (Humphry bağı). 4:lateral femoral kondil.....	7
Şekil 3.	Menisküs Liflerinin Görünümü	10
Şekil 4.	Menisküslerin kanlanması. Sağdaki şekilde okla lateral menisküsün popliteus tendonu ile komşu olduğu yerde arteryel pleksusun bulunmadığı alan gösterilmekte	11
Şekil 5.	Menisküsün kanlanması. (R:Red, W:White)	11
Şekil 6.	(a) Menisküs, konveks yapıdaki femoral kondilin tibial plato üzerine uygulamakta olduğu kuvvetin geniş alana yayılmasını sağlar. (b) Total menisektomi, femoral temas alanını küçültmekte ve kuvvet tibial plato üzerinde tek bir noktaya yoğunlaşmaktadır	13
Şekil 7.	Menisküs yırtık tipleri. (O'Connor)	16
Şekil 8.	Menisküs yırtık tipleri. (Cooper).....	16
Şekil 9.	Menisküsün damarlanma bölgesine göre sınıflanması.....	17
Şekil 10.	Menisküs yırtıklarının sınıflanması, (90)	21
Şekil 11.	Menisküs eksizyon tipleri. A: Parsiyel menisektomi, B: Subtotal menisektomi, C: Total menisektomi	24
Şekil 12.	Mitokondriyal Genom (MtDNA)	26
Şekil 13.	ÖÇB cerrahisi için preoperatif hazırlık aşaması	30
Şekil 14.	Dejeneratif ve travmatik menisküs yırtığı cerrahisi için preoperatif hazırlık aşaması.....	31
Şekil 15.	Gtöi sonrası cerrahi alan görünümü	31
Şekil 16.	Gtöi sonrası cerrahi alan görünümü	32
Şekil 17.	Dejeneratif Menisküs Yırtığının Görünümü.....	33
Şekil 18.	Travmatik Menisküs Yırtığının Görünümü	33
Şekil 19.	Menisküs doku patoloji örneğinin saklanması.....	34
Şekil 20.	Periferik kan numunesinin saklanması	34
Şekil 21.	Menisküs doku örneklerinden elde edilen PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	39

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Menisküsler, dizin lateral ve mediyalinde yer alan fibrokıkırdak özellikte, hilal kama şekilli yapılardır. Konkav femur eklem yüzeyi ve düz tibia plato yüzeyleri arasında eklemleşme olanağı sağlar, üçgen kesitlidir ve tibial platonun yaklaşık 2/3'ünü kaplar. Menisküslerin; yük iletimi, şok emilimi, stabilite, beslenme, eklem lubrikasyonu ve propriyosepsiyonu gibi önemli görevleri vardır; dizde eklem uyumunu ve temas alanını arttırarak temas streslerinin azalmasını sağlar (1).

Menisküs yırtıkları, etiyolojiye bağlı olarak travmatik veya dejeneratif olarak sınıflandırılır. Travmatik yırtıklar, sıklıkla gençlerde ve spor sırasında normal diz ve menisküse aşırı kuvvet uygulanması ile oluşan akut yırtıklardır ve semptomların başlangıcı tipik olarak travmatik olayla ilişkilidir. Dejeneratif menisküs yırtığı ise yavaş gelişen lezyondur, travma öyküsü yoktur veya minimal travma ile meydana gelir. Patogenezi tam anlaşılmamıştır ancak genellikle 45 yaş üzerindeki kişilerde, menisküs yapısının esnekliğinin azaldığı, dejeneratif değişikliklerin başladığı menisküs dokusunda meydana gelir (2).

Hücre organellerinden biri olan mitokondri, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretiminin yanı sıra üstlendiği görevler ile hücre canlılığının sürdürülebilmesinde merkezi öneme sahiptir. Organelin hücre canlılığına katkıda bulunmasında rol oynayan en temel özelliklerinden biri de kendine özgül genetik sistemidir. Bölünüp çoğalma özelliğine sahiptirler. Solunum sırasında monomer organik besinler, inorganik besinlere dönüşürler böylece oksijenli solunum ile ATP sentezini gerçekleştirirler. Kendilerine ait ribozom, DNA ve RNA'ları vardır. Her mitokondride sayısı iki ile on arasında değişen mtDNA bulunmaktadır (3). MtDNA kalıtımı genellikle sitoplazmik bir kalıtım olup bu kalıtım maternal olarak yavrulara aktarılmaktadır. Bu kalıtımda spermatozoon fertilizasyon sırasında korona radiatanın delinip geçilmesi, zona pellusidanın delinip geçilmesi ve oosit ile spermatozoonun hücre zarlarının kaynaşması evrelerini tamamlamaktadır. Fertilizasyon esnasında spermatozoonun bütün içeriği ooplazmaya akmasına rağmen spermatozoonun baş kısmı içerisindeki nükleus genetik materyali zigota katkıda bulunmakta ancak sitoplazmik organellerden mitokondri bu olaya katılmamaktadır. Böylece hasta annenin çocuklarının tamamının hasta olması, hasta babanın ise tüm çocuklarının sağlıklı olması sitoplazmik kalıtımın karakteristiği olmaktadır (4).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda mitokondrinin yaşlanma üzerinde kritik bir rol oynadığını gösteren teoriler artmıştır. Bu teorilerden biri olan oksidatif stres teorisinin ana prensibi, moleküler oksidatif hasarın geri dönüşümsüz ve ilerleyen artışından dolayı ortaya çıkan fonksiyonel kayıptır (5). Yaşla birlikte oksidatif stres miktarındaki artış; serbest radikal oluşum miktarındaki artış, antioksidatif savunmalardaki azalma ve zarara uğramış moleküllerin uzaklaştırılması veya tamirindeki azalmalara bağlıdır (6). Yaşlanmanın mitokondriyal teorisi ise serbest radikal hasarının mtDNA’da birikimi sonucu mitokondrilerin etkinliğinin düşmesi, hücre ölümü ve sonuçta yaşlanmaya yol açmasıyla ilgilidir (7). MtDNA mutasyona uğramış farelerden elde edilen deneysel sonuçlar, somatik kök hücrelerdeki mtDNA mutasyonlarının oksidatif stresi artırmadan progeroid fenotipleri tetikleyebileceğini ve dolayısıyla biyoenerjetik eksikliğe yol açan mtDNA mutasyonlarının yaşlanma sürecini yönlendirebileceğini göstermektedir (8). 2005 yılında yapılan bir çalışmada mitokondriyal matrikse antioksidan bir enzim olan katalaz eklenerek somatik mtDNA mutasyon oranı azaltılmış, bunun sonucunda farelerin yaşam sürelerinin arttığı gözlenmiştir (9).

Yaptığımız literatür taramasında travmatik olmayan menisküs yaralanmalarında mtDNA analizi yapılan bir çalışma bulunmamıştır. Fakat yine diz ekleminde dejenerasyona neden olan hastalıklardan birisi olan osteoartritin yaşlanma ile ilişkisini konu alan bir derlemede bu hastaların etiyopatogenezinde artmış reaktif oksijen radikallerinin üretimi ile birlikte mitokondriyal disfonksiyonun önemli olabileceği öne sürülmüştür (10). Ayrıca yapılan çalışmalarda osteoartrit vakalarında farklı mtDNA haplogrupları arasındaki korelasyonunda anlamlı farklılıklar saptanmıştır (11). Daha önce dejenere menisküs mtDNA mutasyon yükünün araştırıldığı bir çalışma bulunmamıştır. Fakat 2019 yılında yapılan bir çalışmada yaşa bağlı duyma kaybında artmış mitokondriyal mutasyon yükü saptanmıştır (12). Aynı zamanda yaşlanma ile ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıklardan biri olan Alzheimer Hastalığında da yine artmış mtDNA mutasyon yükü olduğu saptanmıştır (13). Çalışmamızda dejeneratif menisküs yırtığı olan 18-45 yaş aralığındaki 20 hastadan ve travmatik menisküs yırtığı olan 18-45 yaş aralığındaki 17 hastadan artroskopik cerrahi girişimi esnasında debridman amaçlı alınan menisküs dokusu ile periferik kan örneğinden ve izole ön çapraz bağ cerrahi girişimi yapılan 18-45 yaş aralığındaki 22 hastaya ait periferik kan örneğinden mtDNA dizileme analizi yapılması planlanmıştır.

Bu bağlamda genç hastalarda dejeneratif menisküs yırtığı predispozan faktörleri arasında mtDNA varyantlarının etkili olup olmadığı araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Tarihsel süreç içinde menisküsün öneminde ve meniskal patolojilerin tedavisinde teknolojik gelişmelere dayalı önemli değişiklikler yaşanmıştır. Tarihte ilk defa 1784 yılında Hey Groves ‘Diz Mafsalında Bozukluklar’ isimli makalesinde menisküs patolojilerinden ve tedavilerinden bahsetmiştir (14). İlk menisküs cerrahisini 1883 yılında Dr. Thomas Annandale açık artrotomi ile başarılı bir şekilde gerçekleştirmiş ve 1885 yılında ‘Deplase semilunar kıkırdak ameliyatı’ isimli makaleyi yayınlamıştır. Yapılan bu operasyon ilk menisküs onarımı olarak tarihsel bir öneme sahiptir (15). Artroskopik teknolojiler gelişene kadar menisküs patolojileri için sınırlı sayıda açık artrotomi yöntemi uygulanmıştır. 20 yüzyıl başlarında menisküs patolojilerinde en ufak bir şüphe varsa dahi genel görüş birliği menisküslerin total eksizyonu şeklindeydi. Eksizyon sonrası menisküs yerine onun fonksiyonunu görecektir fibrokartilaj bir kıkırdak oluşacağı varsayılıyordu (16). 20 yüzyıl ortalarında yapılan menisektominin sonuçlarının kötü olduğu anlaşılmış ve total menisektomiden uzaklaşmaya başlanmıştır. Severin Nordentoft diz eklemine artroskopiye ilk kez trokar endoskopi ile uygulayarak, artroskopi terimini tanımlayan ve ilk artroskopi yayını yapan ilk hekim olarak literatüre girmiştir (17). Artroskopik yöntemle ilk menisküs tamiri Japon Dr. Hiroshi Ikeuchi tarafından 1969 yılında yapılmış bu yöntem ancak 1975 yılında rapor edilebilmiştir (18). İlk artroskopik tamir batı dünyasında ise Charles Henning tarafından 1980 yılında yapılmıştır (19).

Ülkemize ilk artroskopi denemesi 1976 yılında Dr. Veli Lök tarafından Ege Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği’nde gerçekleştirilmiştir (20). İlk menisküs tamiri ise 1988 yılında Dr. Mehmet Binnet tarafından yapılmıştır ve 61 menisküs dikiş olgusunun 6 yıllık takiplerini 1994 yılında yayınlanarak kayıt altına almıştır (21).

2.2. MENİSKÜS ANATOMİSİ VE NÖROANATOMİSİ

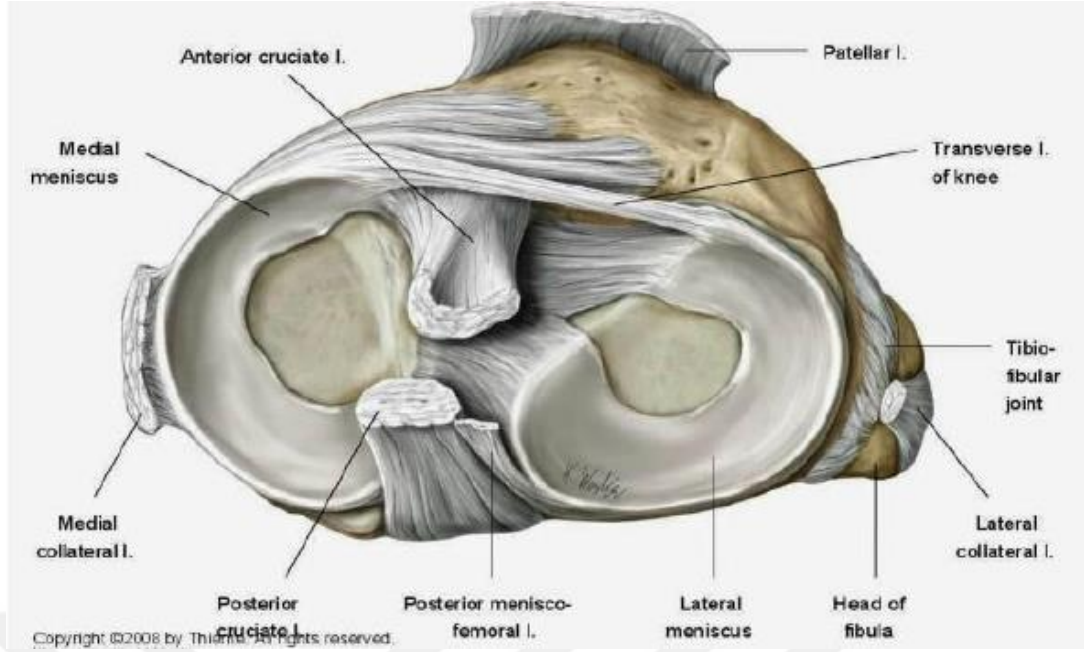
Menisküs, iki adet yarım ay şeklinde fibröz kıkırdaktan yapılmış oluşumlar olup birbirine uymayan eklem yüzlerinin uymasını, böylece hareketin daha düzenli bir şekilde yapılmasını sağlar. Uzun yıllar boyunca ‘bacak kaslarından köken alan afonksiyonel yapılar’ olarak tanımlanmışlardır (22). Dış kenarları kalın ve dış

bükeydir, içe doğru incelerler. Proksimal yüzleri iç bükey olup femur kondilleri ile temas halinde iken distal yüzeyleri ise düzdür ve tibia ile temas ederler (23). Her dizde lateral ve medial olmak üzere ikişer adet menisküs bulunur. İki menisküs tamamen aynı değildir. Medial menisküs şekil olarak hilale benzer. Arka kısmı ön kısmına göre daha geniştir. Lateral menisküs ise daha daireseldir; önden arkaya doğru genişliği değişmez. Medial menisküs medial tibial platonun %60'ını, lateral menisküs ise lateral tibial platonun %80'ini kaplar (Şekil 1). Periferde yer alan kısımları kalın, konveks ve eklem kapsülüne yapışıktır. İç kısımları ise ince ve serbesttir. Menisküslerin üst yüzeyleri konkavdır böylelikle temasta oldukları konveks femoral kondillerle eklemleşmeleri kolaylaşır. Tibial platoya yerleşen alt yüzeyleri ise düzdür. Menisküslerin karşılardaki eklem yüzeyleriyle uyumlu bir şekle sahip olmaları sayesinde, eklem hareketi sırasındaki sürtünme oldukça azalmaktadır (24),(25). Medial menisküs yarım daire şeklinde ve yaklaşık 3.5 cm uzunluğundadır. Medial menisküs genişliği ön bölümde 6 mm, arkada ise 12 mm'dir (26). Medial menisküsün ön ucu ön çapraz bağın (ÖÇB) ön tarafına tutunur; ön ucun arka kısım lifleri lig. transversum genus olarak uzanır ve lateral menisküsün ön tarafına tutunur. Bu nedenle medial menisküs lateral menisküse oranla daha az hareketlidir (27). Bu durum klinikte medial menisküsün lateral menisküse göre daha fazla yaralanmasını açıklanmaktadır. Medial menisküs ön boynuzunun arka lifleri transvers meniskal ligamana katılır. Arka boynuzu ise arka çapraz bağ (AÇB) ile lateral menisküsün arka boynuzunun yapışma yeri arasında yer alan, tibianın posterior interkondiler fossasına tutunmuştur. Medial menisküs tüm çevresi boyunca eklem kapsülüne tutunur. Bu kapsüller tutunmanın tibial kısmı genellikle koroner ligaman olarak adlandırılır. Lateral menisküs, medial menisküse oranla ağzı daha kapalı bir C harfi şeklinde olup dairesel yapıdadır ve tibiada medial menisküse oranla daha fazla yer kaplar. Dış-iç kenarları arasındaki genişlik hemen hemen her yerinde aynı olup tüm uzunluğu boyunca genişliği yaklaşık 10 mm'dir (26). Lateral menisküs ön boynuzu ÖÇB'nin dış ve arka kısmında kalan tibia interkondiler bölgesine yapışır. Arka boynuzu ise iç menisküsün arka boynuzunun ön kısmında kalan tibia interkondiler mesafeye yapışır. Lateral menisküsün arka-dış kısmındaki olukta, popliteus kasının tendonu bulunur ve en iç tarafta birbirleriyle kaynaşırlar. Lateral menisküsün arka ucundan femurun iç kondilinin dış yüzüne uzanan iki grup bağ yapısı bulunur. Bunlardan birisi arka çapraz bağın arkasında seyrederek ve arka meniskofemoral ligament (Wrisberg Bağı) adını alır, diğeri ise arka çapraz bağın önünde seyrederek ve ön meniskofemoral ligament

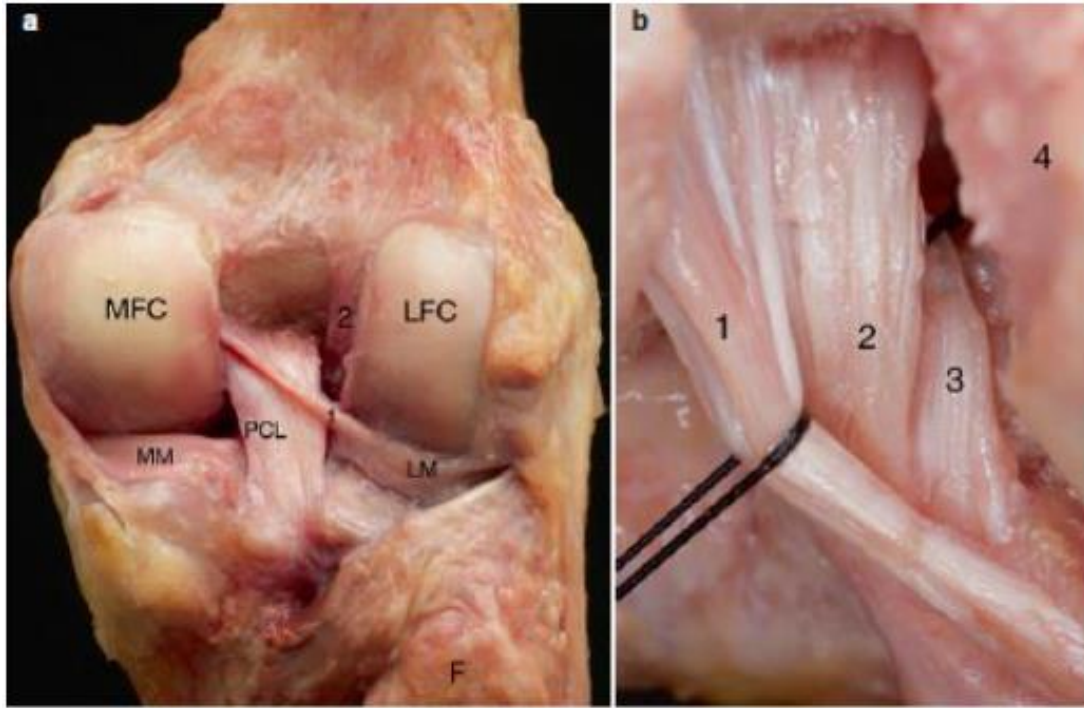
(Humphry Bağı) şeklinde isimlendirilir (Şekil 2) (28). Bu ligamanların en az birinin varlığı %100 olarak bildirilmişken; her ikisinin birden varlığı %46 olarak bildirilmiştir (29). Lateral menisküs kapsüle daha gevşek tutunur; posterolateralinde yer alan popliteus tendonunun geçtiği ve popliteal hiatusu oluşturduğu üçte birlik kısmında kapsülle bağlantısı yoktur. Her iki menisküs arka 1/3'lük kısımlarının artroskopik onarımı açısından önemli yapılarla komşuluğu vardır. Risk altındaki yapılar medialde safen ven ve safen sinir, lateralde peroneal sinirdir. Popliteal damar sinir paketi içinde en öndeki, yani posterior kapsül ile temasta olan yapı popliteal arter olup orta hattın hafif lateralindedir. Popliteal arter her iki menisküs arka boynuzları ile ilgili cerrahi işlemler esnasında risk altındadır.

Menisküslerin inervasyonunun büyük kısmı tibial sinirin posterior artiküler dalı tarafından sağlanır. Ayrıca safen sinirin dalı olan medial artiküler sinir de medial menisküsün inervasyonuna katkı sağlamaktadır (30). Merkezi sinir sistemine ulaşan menisküs kaynaklı propriyoseptif bilgi, femurun tibial plato üzerindeki anteroposterior translasyonunun derecesini etkileyebilir. Menisküslerin diz ekleminin stabilitesine katkıları mekanik özelliklerinin yanı sıra propriyoseptif özelliklerinden de kaynaklanmaktadır. İzole menisküs yaralanmalarında dizin propriyosepsiyon duyusunda anlamlı derecede azalma olduğu gösterilmiştir (31).

Menisküsteki mekanoreseptörler; gerilim, kompresyon, pozisyon ve hızdaki değişikliklerle ilgili fiziksel uyarıları elektriksel sinir uyarısına dönüştüren özelleşmiş reseptörlerdir. Çalışmalarda menisküste serbest sinir uçları ve 3 tip mekanoreseptör tanımlanır. Bu mekanoreseptörler Rufini sonlanmaları, Pacinian korpüskülleri ve Golgi tendon organlarıdır (32). Serbest sinir uçları, nosiseptörler olarak adlandırılır; inflamasyon, yaralanma ve doku deformasyonu ile aktive olur, ağrı hissini taşır. Bu nöral elementler özellikle menisküsün arka boynuzunda olmak üzere, menisküs boynuzlarında gövdesine göre daha yoğun görülür (33). Özellikle hareketin son açılarında, menisküs boynuzlarının stres altında kalmasıyla daha fazla reseptörün ateşlendiği, buna bağlı olarak yüksek açılarda daha fazla duyu girdisinin olduğu görüşü benimsenir (34).



Şekil 1.Menisküslerin üstten görünüşü.



Şekil 2.(a) Sağ diz ekleminin kadavra örneği, posterior görünüm.(b) Sağ diz ekleminin arkadan görünüm. 1: posterior meniskofemoral bağ (Wrisberg ligament). 2: arka çapraz bağ. 3: anterior meniskofemoral bağ (Humphry bağı). 4:lateral femoral kondil

2.3. MENİSKÜS EMBRİYOLOJİSİ

Bir zamanlar fonksiyonsuz embriyonik bir atık olarak tariflenmiş menisküsün diz eklemindeki fonksiyonel önemi gün geçtikçe daha da anlaşılmaktadır (35). Menisküsün gövdesi, periferde bulunan 1/3'lük kısım kırmızı-kırmızı bölge, ortada bulunan 1/3'lük kısım kırmızı-beyaz bölge, merkezde bulunan 1/3'lük kısım beyaz-beyaz bölge olarak isimlendirilir (36).

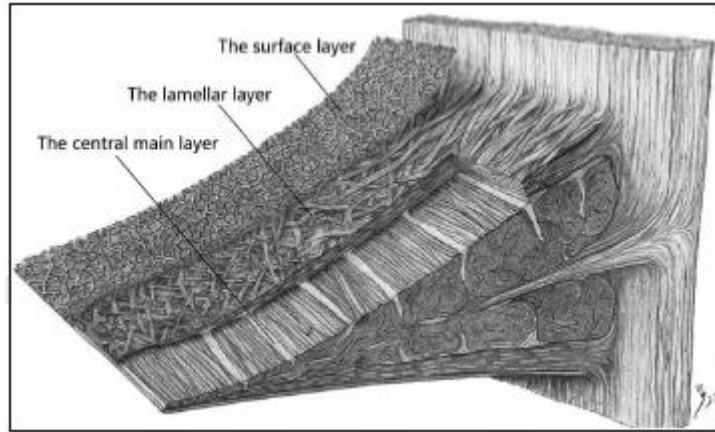
İlk olarak gestasyonun 4. haftasında alt ekstremité tomurcuğu görülmeye başlar. 7. haftada ekstremité ventrale doğru uzamaya başlar (37). Gestasyonun 8. haftasında embriyonik dönemin sonunda menisküsler açıkça görülebilmektedirler. Alt ekstremité blastomu önce devamlı bir yapıdır. Zamanla diz eklemi seviyesinde eklemi oluşturmak için değişiklikler meydana gelir. Oluşan eklem seviyesinde bir çift kondrojenik tabaka ile bir ara tabaka gelişir. Eklem içi yapılar ara tabaka içinde daha fazla yoğunlaşırlar (38). Gestasyonun 8.-10. haftalarında karakteristik şeklini almaya başlar (24). Doğuma kadar karakteristik şekillerini kazanan menisküslerin fetal hayat boyunca tamamında kan damarı bulunur. Doğum sonrası ise damarlanma azalır ve femur ile tibianın büyümesine paralel bir şekilde gelişimini tamamlar. Damarlanma menisküsün periferinde olacak şekilde menisküste bulunmaya devam eder. Doğum öncesi dönemde hücre açısından zengin olan menisküslerin, doğum sonrasında hücre sayısında azalma gözlenir. Menisküsler bu süreçte şekillenir ve kollajen miktarında artma görülür. Yük taşımaya adapte olurlar (38). Doğum sonrasında menisküslerin periferik %10-30'luk kısmı vaskülerizedir (24).

2.4. MENİSKÜS HİSTOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Menisküsler hücreler ve ekstrasellüler matriksten oluşan fibrokartilaj yapılarıdır. Az sayıda hücre içermekte olan menisküslerin temel hücresi fibrokondrositlerdir. Fibrokondrositler hem fibroblast hem de kondrosit özelliklerine sahiptir. Bu hücreler özellikle kollajen olmak üzere ekstrasellüler matriksin yapımı ve devamından sorumludur. Menisküsü oluşturan hücreler üç tiptir. Menisküsün dış kısmında yer alan hücreler oval ya da iğsi şekildedir ve morfolojik olarak fibroblastlara benzerler. Menisküsün iç kısmındaki hücreler ise daha yuvarlaktır ve periselüler matriksle çevrilidir. Bu hücreler kondrositlere benzedikleri için fibrokondrosit ya da kondrosit benzeri hücre olarak adlandırılırlar. Menisküsün yapısında bulunan üçüncü

hücre tipi ise yüzeyel kısımda yer alan hücrelerdir. Bu hücreler de fibroblast benzeri hücreler gibi iğsi şekildedir fakat daha yassıdırlar ve uzantıları yoktur. Bu üç hücre tipinin de primer fonksiyonu meniskal matriksi sağlamaktır (39). Bu hücrelerin çoğu kan damarlarından uzakta olup, gıda ve metabolitlerin transportu için matriks boyunca difüzyon işlemine bağımlıdırlar (40).

Menisküsün biyokimyasal özelliklerine bakıldığında, sağlıklı menisküs dokusunun %70–75’ini su, %20–22’sini kollajen, %0,6– 0,8’ini glikozaminoglikanlar (GAG) ve %0,10–0,12’sini deoksiribonükleik asit (DNA) oluşturur. Menisküsün yapısındaki kollajenin %90’ını tip I kollajen oluşturur. Daha az miktarda tip II, III, V ve VI kollajen de bulunmaktadır (41). Menisküste tip I kollajenin dominant olması tip II kollajen ağırlıklı olan hiyalen kıkırdak ile arasındaki önemli farklılıklardan biridir. Menisküsün GAG içeriği eklem kıkırdağının sekizde biri kadardır (42). GAG’lar negatif yüklü hidrofilik moleküllerdir. Bu özellikleri dokunun kompresif yüklenmelere karşı dayanıklı olmasını sağlar. Menisküsün kuru ağırlığının % 1–2’sini proteoglikanlar oluşturmaktadır. Proteoglikanlara bağlı bir şekilde bulunan glikozaminoglikanlar su moleküllerini bağlayarak dokunun kompresif özelliğini sağlarlar. 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 yırtık oluşumunun nedenini açıklar. Önce bu az sayıdaki lif travma veya dejenerasyonla hasar görür, daha sonra menisküste horizontal ayrılma meydana gelir (43). 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 (27). Menisküslerin içindeki kollajen liflerinin organizasyonu menisküsün biyomekanik özellikleri ile yakından ilgilidir (44). Radial lifler hem sirkumferensial lifleri birbirlerine bağlar hem de periferel tutunmayı sağlayarak menisküs stabilitesini sağlar. Ağırlık altında menisküsler üçgen yapıları nedeniyle perifere doğru itilir ve bu sırada sirkumferensiyel lifler boyunca gerilim kuvvetleri oluşur. Bu sırada menisküsü bir arada tutan radial liflerdir (Şekil 3).



Şekil 3.Menisküs Liflerinin Görünümü

2.5. MENİSKÜS BESLENMESİ VE İNNERVASYONU

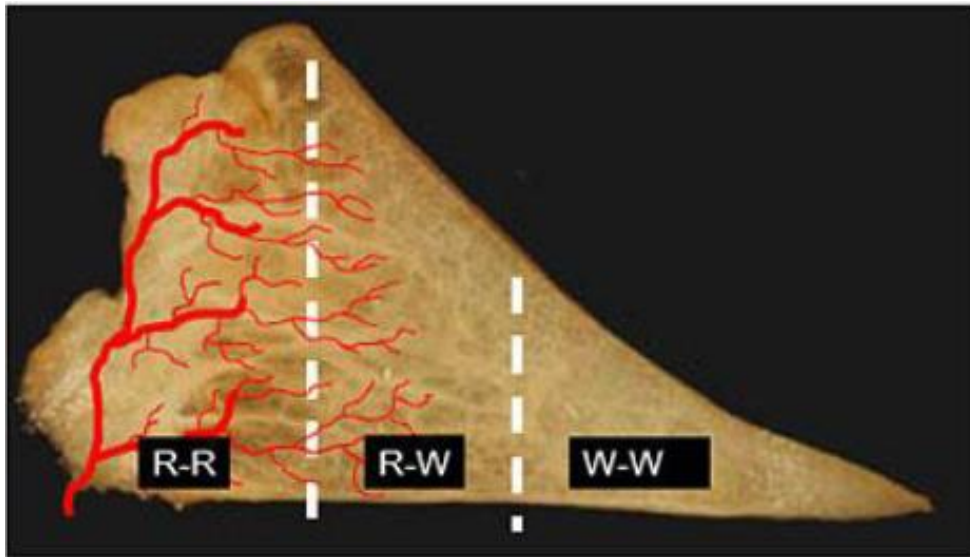
Gestasyonel dönemin 8. haftasından başlayıp postnatal 12. aya kadar lenfatikler ve kan damarları menisküsün tüm bölümlerinde bulunmaya devam eder. Yürümenin başlaması ve bununla birlikte vücut ağırlığı ve kas kasılmalarından kaynaklanan streslerin menisküslere yük bindirmesiyle menisküsün santral kısmındaki kan damarları avasküler hale gelmeye başlar (45). 18. ay civarında menisküslerin periferik bölgesinin %25-33'ü kanlanır ve 11 yaş civarı menisküslerin santral kısmı tamamen avasküler hale gelir (18). 2.dekadda menisküsün sadece 1/3'lük kısmının kanlandığı bilinmektedir. Hızla gerçekleşen bu kanlanamama döngüsünün diz hareketleriyle ve yük taşımayla doğrudan ilgili olduğu düşünülmektedir (46). Menisküslerin periferal kısımlarının beslenmesi ağırlıklı olarak lateral ve medial geniküler arterlerin superior ve inferior dalları ile olur. Bu dallar diz ekleminin kapsüler ve sinovyal dokuları etrafında perimeniskal kapiller pleksusları oluştururlar. Oluşan bu pleksus; menisküs periferinde eklem kapsülüne yapışma yerinde dallanır. Bu dallanma çemberseldir. Radial dalları eklemin merkezine yönelir. Yalnızca lateral menisküsün posterolateralinde bulunan popliteal hiatus kısmı bu kanlanmadan yoksundur (Şekil 4) (47). Lateral menisküsün periferal kanlanması %10-25 ile sınırlı iken, medial menisküsün periferik kanlanması %10-30 oranındadır (22). Bu oranlar menisküs iyileşmesinde önem arz etmektedir. Geri kalan bölümün beslenmesi ise sinoviyal difüzyon ile sağlanmaktadır (22). Menisküsler kanlanması açısından üç zona ayrılır. Bu zonlar merkezden perifere doğru “Beyaz-Beyaz”, “Kırmızı-Beyaz” ve “Kırmızı-Kırmızı” bölgelerdir. “Kırmızı-Kırmızı” bölgenin kanlanması iyi iken,

“Beyaz-Beyaz” bölge avaskülerdir. Menisküslerin boynuz kısımları gövde kısımlarına göre daha fazla kanlanır (Şekil 5) (40).

Menisküslerin innervasyon özelliklerini araştıran çalışmalar proprioseptif reseptörlerin varlığını göstermektedir. Kennedy ve ark. yaptığı çalışmada perimeniskal bağ dokusunda sinir dokusu saptamışlardır (32). 1922 yılında Assimakopoulos ve ark. menisküs cisminin periferik ve medial 1/3'lük kısımlarında serbest sinir uçları, ön ve arka boynuzlarda da üç tip enkapsüle mekanoreseptör saptamışlardır (48). Bu nedenle menisküsler eklemi aşırı zorlanmalardan koruyan bir proprioseptif duyu organı olarak da görev yapmaktadırlar (49).



Şekil 4. Menisküslerin kanlanması. Sağdaki şekilde okla lateral menisküsün popliteus tendonu ile komşu olduğu yerde arteryel plexusun bulunmadığı alan gösterilmekte

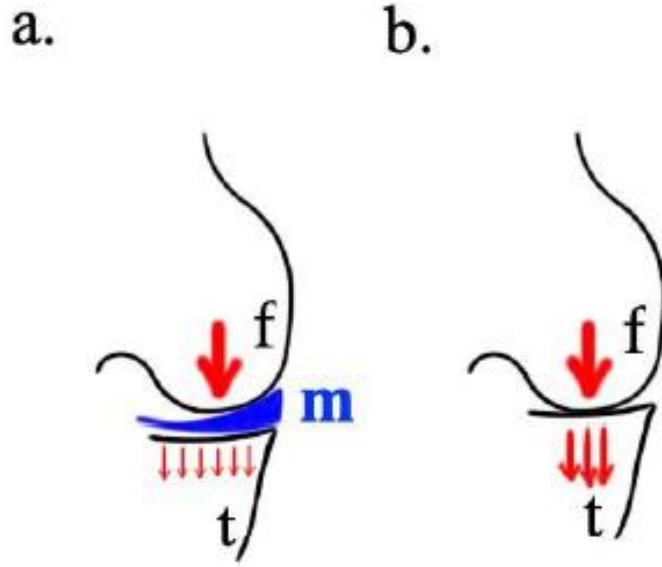


Şekil 5. Menisküsün kanlanması. (R:Red, W:White)

2.6. MENİSKÜS BİYOMEKANİK VE İŞLEVSEL ÖZELLİKLERİ

Menisküs aktif bir doku olup; makaslama, stres, kuvvet ve yük altındaki kuvvetlere geometrisi ve histolojik-biyokimyasal yapısı sayesinde karşı koyan eklem içi bir organdır. Bir dönemde faydasız organ kalıntısı olarak düşünülen menisküslerin, zamanla çok önemli işlevleri olduğu belirlenmiştir. Menisküsün biyomekanik özellikleri anatomik ve viskoelastik materyal özelliklerine bağlıdır. Menisküsler, bu özellikleri sayesinde diz eklemine birçok önemli işleve sahiptirler. Yük taşıma, şok absorpsiyonu ve eklem stabilitesine katkı sağlanması, eklem kayganlaştırılması ve propriyosepsiyon menisküslerin işlevleri arasında yer alır (50). Menisküsün fizyolojik yüklenmeler ile şekil değiştirebilme özelliği sayesinde, eklem hareketi kısıtlanmadan bütün hareket derecelerinde eklem yüzeylerinin maksimum uyumluluğu sağlanır, bu da eklem binen yüklerin optimum dağılmasını sağlar (Şekil 6). Bu nedenle menisküslerin başlıca işlevi gelen yükleri diz eklemine dağıtmak olarak düşünülebilir. Yüklenme sırasında lateral kompartmandaki yükün %70'i, medial kompartmandaki yükün ise %50'si menisküsler tarafından iletilir (51). Diz ekstansiyondayken eklem gelen yüklerin %50'sini menisküsler taşımaktadırlar. 90 derece fleksiyon halindeki bir dizde yük taşıma oranı %85'lere kadar çıkmaktadır (52). Distal femur ve proksimal tibia gibi birbirleriyle uyumu olmayan bir eklemden eklem uyumlu hale getirilmesi ve yükün dağıtılması menisküsler sayesinde olur. Menisküsler sayesinde tibiofemoral temas yüzeyi genişler ve yüklenme sırasında temas stresi azalır. Menisküsler eklem hareketi sırasında tibia ve femurla birlikte hareket ettikleri için eklem uyumunu ve yükün dağıtılmasını sağlarlar. Bu dinamik uyum yük taşınmasının yanı sıra eklem stabilitesine ve kayganlaşmaya da katkı sağlar (53). Proteoglikanlar kompresif güçlere karşı dayanma yeteneği sağlarlar. Hidrofilik olmaları nedeniyle kendi ağırlıklarının 50 misli kadar su taşıyabilirler ve yüklendiklerinde bunun % 20'sini ortama salabilirler (54). Menisküs yük altında kaldığında bu cevaplar sayesinde bir miktar şekil değiştirir ve üzerine gelen kuvveti dağıtır. Yük ortadan kalktığında tekrar normal boyutlarına döner ve ortama saldığı sıvıyı geri emer. Bu sıvı akımı hem fibrokondrositlerin beslenmesine yardımcı olur hem de eklem lubrikasyonuna katkıda bulunur. Çeşitli sebeplerle menisektomi sonrası hastalarda eklem kıkırdağı günlük etkinlikler sırasında bile anormal kuvvetler ile karşılaşır. Anormal yük dağılımı, subkondral kemiğe kadar yansır. Menisektomi sonrası yapılan kemik dansitesi ölçümlerinde kemik yoğunluğunun eklem yüzeyinden arkaya subkondral kemiğe doğru artış gösterdiği

izlenmiştir. Bu biyomekanik değişiklikler neticesinde menisektomi sonrası osteoartrit oluşumu menisektomi miktarı ile doğru orantılı olarak gelişir (52). Parsiyel menisektomi sonrası eklem yüzleri arasında temas alanı %10, total menisektomi sonrası ise %75 azalır. Birim alana düşen yüklenme medial menisküs yırtığı sonrası parsiyel menisektomi için %65, total menisektomi için %235 artar (55),(56). Dizin fleksiyonu sırasında menisküslerin hareketli olması eklem yapan yüzler arasındaki uyumu arttırırken yaralanmalarını engeller. Medial menisküsün özellikle posteromedial kısmının daha hareketsiz olması yırtıkların neden daha sık bu bölgede gözlemlendiğini açıklamaktadır (45). Ayrıca diz fleksiyonu sırasında menisküsler arkaya, ekstansiyon sırasında öne; iç rotasyon sırasında iç menisküs öne, dış menisküs arkaya; dış rotasyon sırasında iç menisküs arkaya, dış menisküs öne kayar (57),(58). Menisküsün bir diğer önemli işlevi de eklem stabilitesine katkı sağlamasıdır. Medial menisküs arka boynuzu, ön çapraz bağı olmayan bir dizde ikincil bir stabilizör olarak rol oynamaktadır. Allen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, medial menisküse etki eden güçlerin, ön çapraz bağı yırtık olan bir dizde, sağlam olan dize göre anlamlı derecede yüksek olduğu ortaya konulmuştur (59). Menisküslerin dizin stabilitesine sağladıkları mekanik katkının yanı sıra propriyoseptif refleks arkı sayesinde işlevsel katkıları da vardır (60).



Şekil 6. (a) Menisküs, konveks yapıdaki femoral kondilin tibial plato üzerine uygulamakta olduğu kuvvetin geniş alana yayılmasını sağlar. (b) Total menisektomi, femoral temas alanını küçültmekte ve kuvvet tibial plato üzerinde tek bir noktaya yoğunlaşmaktadır

2.7. MENİSKÜS YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

Menisküs yaralanma insidansı 100.000'de 60-70'tir (61). Erkek/kadın oranı 2.5/1'dir. Kadınlarda sıklıkla 10-20 yaş arasında görülürken erkeklerde 20-30 yaş arasında görülür. Medial menisküs/lateral menisküs yırtılma oranı 3/1'dir. 30 yaş altında sebep travma iken 30 yaş üzeri hastalarda sebep dejeneratif olaylardır (62). Medial menisküste yırtık lateral menisküse göre 3 kat fazla gözlenir (62). Menisküs yırtıkları %95 indirekt, %5 direkt mekanizmalar ile gelişir. Trafik kazaları, spor yaralanmaları, dize gelen darbeler menisküs üzerine aşırı yükün bindiği direkt mekanizmalar arasındadır. Futbol ardından sırasıyla atletizm, amerikan futbolu ve kayak menisküs yaralanmalarına en sık görüldüğü spor alanlarıdır. Bu hastalarda yırtık genellikle yük taşıyan diz semifleksiyonda iken rotasyonel kuvvete maruz kalmasıyla oluşur (63). Yaşın ilerlemesi ve bunun ile birlikte menisküslerde meydana gelen dejeneratif değişiklikler indirekt yırtılma mekanizması sonucu oluşur. Bunun nedeni ise yaşlanma ile beraber menisküsün elastikiyetinin, hücre sayısı, kollajen ve GAG içeriğinin azalması su içeriğinin artmasıdır. Yani ilerleyen yaşla birlikte menisküs makroskopik olarak sertleşir, elastikiyetini kaybeder ve rengi sararmaya başlar. Mikroskopik olarak ise hücreleri azalır ve boş alanlar oluşur. Elastik dokuda azalma ile beraber fibröz doku artışı gözlenir. Menisküsün yüzeysel tabakası ile derin tabakası arasında bulunan boş alanların oluşturduğu kistik yapı dize gelen torsiyonel yükler sonrası horizontal yırtık oluşturabilir (64). Ayrıca meydana gelen dizilim bozukluğu, anormal mekanik aks, kuadriseps yetmezliği, instabilite, doğumsal eklem laksitesi de menisküste yaralanma ihtimalini arttırmaktadır (62),(65). Ancak dejeneratif menisküs yırtıklarının moleküler patolojisi tam olarak bilinmemektedir (66).

Yaralanma mekanizmasını detaylı inceleyecek olursak; fleksiyon esnasında medial menisküs yaklaşık olarak 9-10 mm, lateral menisküs 2-3 mm posterioara deplase olurlar. Medial menisküs arka boynuzunda harekette azalma, femoral kondil ve tibial plato arasına sıkışma sonucu yırtık ile sonuçlanabilir. Medial menisküs ön ve arka boynuzları hareketleri arasındaki fark menisküs yaralanması için en büyük risk teşkil eder. Menisküsteki bu hareketlilik ayrıca fleksiyon ve ekstensiyonun tüm derecelerinde femur kondilleri ile tibia platosu arasında maksimum uyumu sağlar (64). Medial menisküs ligamentum collaterale tibiale'nin derin bölümüne yapıştığından

lateral menisküse göre daha hareketsizdir (67). Ancak bu stabilite travma esnasında (özellikle valgus zorlamalarında) menisküs yırtılmalarının sebebi de olabilir (68).

2.8. MENİSKÜS YIRTIKLARININ SINIFLAMASI

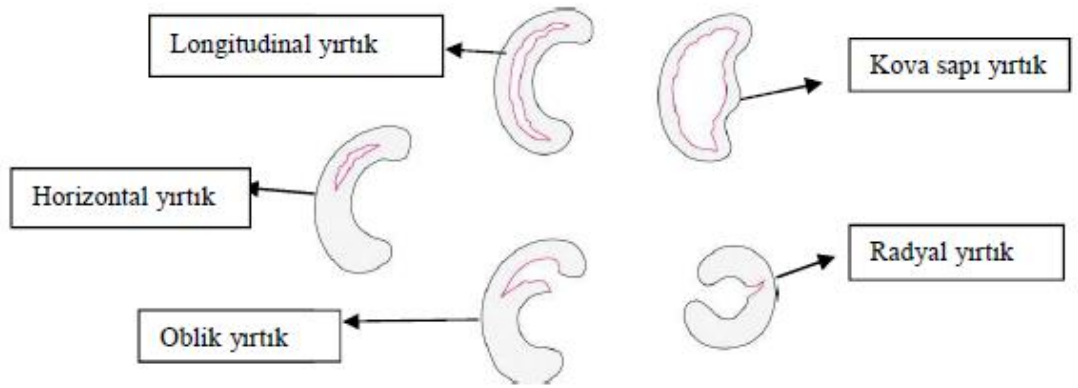
Menisküs yırtıkları, yerine, şekline ve daha birçok özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflanmıştır. Günümüzde en sık kullanılan sınıflama yırtık şekline göre yapılan sınıflamadır. O'Connor tarafından 5 tip yırtık tarif edilmiştir (Şekil 7) (69). Bunlar; oblik, horizontal, longitudinal, radyal, varyantlar (flep tarzında, dejeneratif ve kompleks) olarak sayılmaktadır. Longitudinal yırtık bu yırtık tipleri arasında en sık görülendir. İnstabil ve tam kat olursa 'kova sapı' yırtık olarak adlandırılır. Horizontal yırtıklar ise diz eklemine paralel olan tedavisi yüz güldürücü yırtıklardır (70). Oblik ve radyal yırtıklar ise her iki menisküste görülse de daha sıklıkla lateral menisküste görülen tedavi başarısı iyi olmayan zor yırtıklardır. Sıklıkla ön ve orta 1/3'lük kısımda görülürler (71). Kompleks dejeneratif yırtıklar ise genellikle arka bölgede görülür ve tedavisi zor yırtıklardır (40). Kompleks yırtıklar, birden çok yırtık paterni izler ve sıklıkla 40 yaş üstü bireylerde görülür. Patoloji sıklıkla arka boynuzdadır. Vücut kitle indeksi fazla olan bireylerde ve ağır işlerde çalışan bireylerde daha sık görülmektedir (72),(73). Dejeneratif menisküs yırtıkları için risk faktörleri arasında yüksek VKİ, iş nedeniyle çömelme, merdiven çıkma, diz çökme gereği olan hastalar, erkek cinsiyet olarak belirtilmiştir. Bu risk faktörleri aynı zamanda osteoartrit için de zemin hazırlamaktadır. Menisküs cerrahisi yapılan hastaların yaklaşık %80'i dejeneratif zemindeki menisküs patolojilerine sahiptir. Bu dejeneratif yırtıklar sıklıkla meniskülerin arka boynuzunda ve gövdesinde görülmektedir (74),(75).

Cooper tarafından yapılan sınıflama ise menisküslerde yırtık yerleşimini tanımlamada yararlıdır. Menisküsler arka, orta ve ön olarak 3 bölüme ayrılır. Medial menisküsün arka bölümünden başlayarak saat yönünde A'dan F'ye kadar isimlendirilir. Meniskokapsüler bileşkeden merkeze doğru üç bölgeye ayrılır (Şekil 8) (76). Menisküs yırtıklarının sık kullanılan sınıflamalarından biri de ilgilendirdiği menisküs dokusunun kalınlığına göre olandır. Yırtık kalınlığına göre tam kat ve kısmi kat şeklinde ayrılır. Ayrıca menisküs yırtıkları damarlanma bölgelerine göre de sınıflandırılır (Şekil 9) (77):

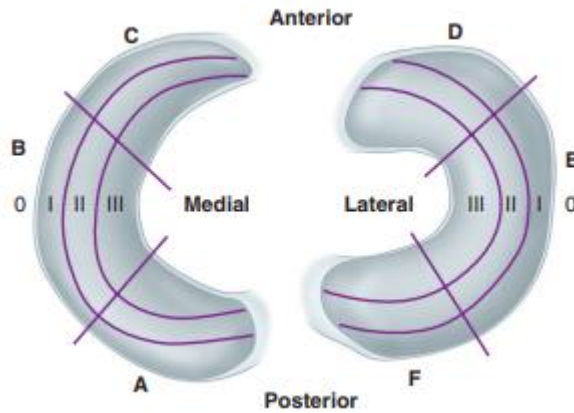
1)Kırmızı-kırmızı bölge yırtıkları: Yırtığın her iki kenarı da damarlı bölgededir. Meniskokapsüler bileşkedен 3 mm'ye kadar olan yırtıkları kapsar. Bu bölgedeki yırtıklarda genelde iyileşme sorunu yoktur.

2)Kırmızı-beyaz bölge yırtıkları: Yırtığın bir tarafı damarlı bir tarafı damarsız bölgededir. Meniskokapsüler bölgeden 3–5 mm arasında uzaklıkta olan yırtıkları kapsar. Genelde iyileşme sorunu olmasa da iyileşmeyi artırıcı yöntemlere başvurmak gerekebilir.

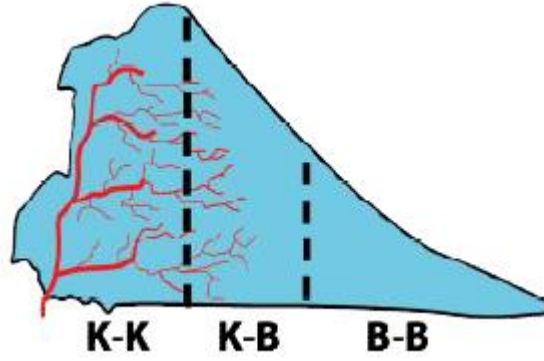
3)Beyaz-beyaz bölge yırtıkları: Yırtığın her iki kenarı da kanlanmadan yoksun olan bölgelerdedir. Meniskokapsüler bileşkeye 5 mm'den daha uzakta olan yırtıkları kapsamaktadır. Bu bölgedeki yırtıklarda iyileşmeyi artırıcı yöntemler kullanılmazsa iyileşme şansları çok düşüktür.



Şekil 7. Menisküs yırtık tipleri. (O'Connor)



Şekil 8. Menisküs yırtık tipleri. (Cooper)



Şekil 9. Menisküsün damarlanma bölgesine göre sınıflanması

2.9. MENİSKÜS HASARLARINDA KLİNİK BULGULAR VE FİZİK MUAYENE

Tıbbın her alanında olduğu gibi, menisküs patolojilerinin tanısı da öykü ile başlar. Öyküde şikayetlerin ne zaman, nasıl başladığı ve başvuru anına kadar geçen süre dikkatlice sorgulanmalıdır. Hastaların en çok başvuru nedeni ağrı ve instabilitedir. Bunu daha az oranda kilitlenme ve eklem şişliği takip eder. Ağrının nasıl oluştuğu, karakteri, yeri, yayılımı ve şiddeti hakkında bilgi alınmalıdır. Ağrı, güvenilirliği çok yüksek olmasa da lokalizasyonu teşhiste yardımcıdır. Menisküs yırtıklarında ağrı daha çok eklem aralığında hissedilir ve medial veya lateral eklem çizgisinde hassasiyet en önemli bir bulgulardan biridir. Ağrının tarifi mutlaka hastaya bırakılmalı ve merdiven inip çıkmakla, yürüme ve istirahatle, oturmakla, eklem hareketleri ve egzersiz ile ilişkisi sorulmalıdır. Kilitlenme menisküs yaralanmalarında oldukça önemli bir bulgudur. Dizin değişik fleksiyon derecelerinde takılıp ekstansiyona gelememesi şeklinde tanımlanabilir. Kova sapı yırtıklarında serbest menisküs parçasının eklem içine sıkışması ile olur. Kilitlenme menisküs yırtıkları için patognomik değildir; eklem içi serbest cisimler, tümörler gibi nedenlerle de kilitlenme olabilir. Diz şişliği eklem içine kanama (hemartroz, travma, hemofili, pigmente villonodüler sinovit vs.) veya hidrartroz nedeniyle olabildiği gibi lokalize de olabilir. Hidrartroz berrak, saman sarısı sıvı birikmesi ve sinovyal irritasyon nedeniyle olur. Primer veya sekonder (osteoartroz, menisküs lezyonu ya da eklem faresine bağlı) olabilir. Boşalma hissi, menisküs arka boynuz yırtıklarında hasta hareket sırasında eklemde bir kayma duygusu olduğunu belirtebilir. Öncelikle ön çapraz ve yan bağın rüptürleri ilk olarak akla gelmelidir. Kuadriseps atrofi, effüzyon varlığı, eklem faresi, patellar

kondromalazi gibi diğer rahatsızlıklarda da olabilir. Menisküs yırtıklarının ayırıcı tanısında; çapraz bağ yaralanmaları, kollateral bağ yaralanmaları, kıkırdak lezyonları, fibrotik medial plika, yağ yastıkcığı posttravmatik inflamasyonu, retinakulum yırtıkları ve serbest cisimler sayılabilir.

Menisküs yırtıklarının tanısında pek çok test tarif tanımlanmıştır. Bu testlerin esası, femur kondilleri ile tibia yüzleri arasında fleksiyon ve ekstansiyon hareketi ile beraber yapılan rotasyon hareketleri ile menisküsler sıkıştırılarak yırtık olan tarafta ağrı ve takılma oluşturmaya dayanır. Bunların başlıcaları; Mc Murray testi, Apley testi, Thessaly testi, Steinmann testi, eklem aralığı hassasiyeti, Ege testi, Ters McMurray testidir. Bu testlerin hiçbirisi tek başına menisküs yırtığı tanısı koydurmaz ancak menisküs muayenesinde rutin olarak uygulamak yararlıdır (78). En sık kullanılan testler eklem aralığı hassasiyeti, McMurray Apley ve Ege testleridir.

Mc Murray testi

Hasta sırt üstü pozisyonda yatarken bir eliyle ayağı tutan hekim diğer eliyle dizin posteromedialinden medial menisküsü ya da posterolateralinden lateral menisküsü muayene eder. Diz tam fleksiyondayken bacağın rotasyona getirilerek ekstansiyona zorlanması ile klik sesinin duyulması ve femoral kondilin menisküsteki yırtığın üzerinden geçerken ağrı oluşturmaya esasına dayanır. Ağrı oluşturma orijinal McMurray testinde yer almayıp daha sonraki yıllarda eklenmiştir. Medial menisküs için diz fleksiyonda iken dış rotasyon ve varus, lateral menisküs için iç rotasyon ve valgus yaptırılır. Bu testte duyulan klik ve ağrı tam fleksiyon ve 90 derece aralığında hissedilir. Bu derecelerdeki bulgular genelde posterior periferik yırtıklarda saptanır. Daha büyük açı derecelerindeki bulgular ise anterior ve orta kısımlardaki yırtıkların belirtisi olabilmektedir (79).

Apley Testi

Bu test ilk olarak 1947 yılında Apley tarafından tanımlanmıştır. Hasta yüz üstü pozisyonda uzanırken dizler 90 derece fleksiyona alınır sonrasında topuktan bastırılarak kompresyon yapılırken bir el ile uyluk sabitlenir ve dize iç ve dış rotasyon yaptırılır. Posterior menisküs yırtıkları için uygulanan bu testte kompresyondaki artan ağrı menisküs yırtığını gösterir. Bu işlem kompresyon değil de uyluk sabit tutulup distraksiyon yapılarak da değerlendirilebilir. Eğer hasta distraksiyon sırasında ağrı

hissederse bunu menisküs lezyonu değil, osteokondral lezyon lehine değerlendirmek gerekir.

Ege testi

Hastanın dizleri iç rotasyonda ve her iki ayak sabitken yere doğru çömelme ve kalkma hareketini yapar. Bu esnada hastanın eklem aralığında ağrı hissetmesi dış menisküs yırtığı lehine yorumlanır. Aynı hareket dizler dış rotasyonda iken tekrarlanır ve iç menisküs yırtığı için anlamlı kabul edilir (80).

Eklem Aralığı Hassasiyeti

Hasta oturur veya yatar pozisyonunda diz 90 derece fleksiyonda iken hekim iç ve dış eklem aralığına parmak uçları ile basınç uygulanır. Hastanın ağrı hissetmesi aynı tarafta patolojik olarak yorumlanabilir. Duyarlılığı yüksek ancak seçiciliği düşük bir testtir, Fowler and Lubliner yaptıkları çalışmada %85 sensitif ancak %29,4 oranında spesifik olduğunu bulmuşlardır (80). Bu nedenle diğer testlerle beraber kullanılması önerilir.

2.10. MENİSKÜS HASARLARINDA GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ

Deneyimli bir klinisyen tarafından yapılan ayrıntılı fizik muayene ve spesifik tanı testleri ile birçok hastaya yırtık tipi ve lokalizasyonu hakkında ön tanı konulabilmektedir. Ancak günümüzde artan teknolojik gelişmeler sayesinde görüntüleme yöntemlerinde ciddi gelişmeler sağlanmıştır. Bu yüzden hastaların değerlendirilmesi sırasında görüntüleme yöntemlerini kullanmak rutin pratiğimize yerleşmiştir.

Direkt radyolojik inceleme : Tüm kemik ve eklemlerde olduğu gibi diz ekleminin değerlendirilmesinde de ilk görüntüleme yöntemi direkt radyolojik incelemedir. Rutin radyolojik görüntüleme, ön-arka (anteroposterior) ve yan (lateral) olmak üzere en az iki düzlemi içermelidir. Gerek duyulması halinde tünel grafisi ve patella tanjansiyel grafisi bunlara eklenebilir. Ancak konvansiyonel radyografik incelemelerde menisküs yırtığı tanısı konulamaz. Dizin lateral ve medial yumuşak dokuları, lateral ve medial kondillerin ağırlık taşıyan yüzleri, proksimal tibia ve fibula, patella, lateral ve medial eklem kompartmanları, eklemden serbest cisim, kalsifiye disk ve dejeneratif olaylar ve bu kemiklerin dizilimleri değerlendirilir. Menisküs

lezyonlarında eklem mesafesinde daralma, diskoid menisküslerde ise eklem mesafesinde yükseklik ve genişlik artışı izlenir (81),(82).

Artrografi : İnvaziv bir yöntemdir. Suda eriyen kontrast maddelere geçiş yöntemin kullanım alanını arttırmış ve yan etkilerini azaltmıştır (83).

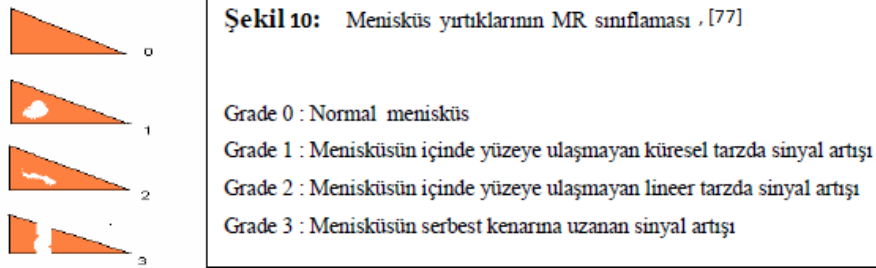
MR Artrografi ve BT Artrografi : Hem menisküs yırtığı tanısında hem de menisküs iyileşmesinin değerlendirilmesinde manyetik rezonans görüntülemeye göre daha iyi yöntemlerdir. İnvaziv olmaları nedeni ile kullanımları daha sınırlıdır (84),(85).

Ultrasonografi : Ekstremité incelemelerinde çoğu yüzeysel ve küçük olan yapıları görüntüleyebilmek için yüksek rezolüsyonlu lineer transdüserler kullanmak gerekir. Ultrasonografi popliteal kist tanısında ve özellikle tromboflebit ile ağrıya neden olan rüptüre popliteal kist ayırımında faydalı bir yöntemdir. Bu bölge lezyonlarından olan popliteal arter anevrizması ile popliteal kist ayırımında da USG kullanılabilir. Eklem efüzyonları USG’de kolayca değerlendirilirken bağ, menisküs ve tendon patolojilerinin değerlendirilmesinde USG yetersiz kalır (86),(87).

Bilgisayarlı Tomografi : Dizde BT kullanımı en çok kırıkların ve kemik tümörlerinin değerlendirilmesinde yarar sağlar. BT’yi artrografi ile birlikte kullananlar menisküs ve bağ yırtıklarında değerli tanı aracı olduğunu bildirmişlerdir (82). İntraartiküler kontrast madde enjeksiyonu, patellar kırıkdağı, sinovyal plika ve çapraz bağların değerlendirilmesine faydalı olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda kontrast madde kullanılarak alınan grafilerde menisküs yırtıklarının daha iyi ortaya çıktığını görülmüştür. Buna eklem içine verilen kontrast madde ve havanın yırtık bölge içerisine girerek patolojiyi belirginleştirdiği şekilde yorumlanmıştır (88). Ayrıca menisküs tamirleri sonrası iyileşmenin değerlendirilmesinde de BT artrografi başarıyla kullanılmıştır (85). MRG yaygınlaşması sonrası günümüz şartlarında özellikle menisküs değerlendirmesi amacıyla kullanılmamaktadır (82).

Manyetik Rezonans Görüntüleme : Günümüzde MRG dizde menisküs lezyonlarının, eklem bağ yaralanmaların, medüler kemik ve kitlelerinin teşhisinde sık kullanılan bir görüntüleme yöntemidir. Menisküsler sagittal çekimde üçgen şeklinde izlenir. Sağlıklı bir menisküs hipointens görünümde olup anterior kök posterior kökten daha küçüktür. MRG’nin menisküs lezyonlarını göstermede sensitivitesi %90,

spesifitesi %95 oranındadır (89). Sagittal planda MRG ile artmış sinyal intensitesine göre sınıflandırılmıştır (Şekil 10) (90). En sık grade 3 değişiklik medial menisküs arka boynuzda görülür(61).



Şekil 10. Menisküs yırtıklarının sınıflaması, (90)

2.11. MENİSKÜS HASARLARINDA TEDAVİ

Menisküs yırtığında tedavi, konservatif ve cerrahi olarak ikiye ayrılabilir. Cerrahi tedavide yaklaşım yırtık menisküs parçasının eksizyonu veya tamiri şeklinde olabilmektedir. Eskiden menisküsün cerrahi tedavisinde açık girişimler tercih edilirken günümüzde daha çok artroskopik girişimler tercih edilmektedir. Menisküs onarımı, 1980’lerden itibaren artroskopik tekniklerin gelişmesi ve menisküslerin kanlanma özelliklerinin aydınlatılması ve iyileşme imkanlarının belirlenmesi ile uygun yırtıklarda ön plana geçmiştir.

Konservatif tedavi : Tam kat olmayan menisküs yırtıkları genelde aynı şekilde kalır ve iyileşirler. Stabil periferik yırtıkların büyük bir kısmı da yine aynı şekilde iyileşirler. Bazı menisküs yırtıkları kendiliğinden iyileşebileceği veya iyileşmese bile asemptomatik olduğu ve menisküsün biyomekanik fonksiyonlarını bozmadığı için tedavi gerektirmez (91). Weiss ve arkadaşlarına göre stabil, 1 cm’den küçük ve belirgin mekanik semptomları olmayan yırtıklar konservatif tedavi adaydırlar (92). Belirtilerin minimal olduğu hastalara 6–12 haftalık istirahat, soğuk uygulama, antienflamatuar ilaçlar ile konservatif tedavi uygulanabilir (60). Mekanik semptomlara yol açan instabil yırtıkların konservatif tedaviyle iyileşmesi zordur. Kilitlenme, aşırı ağrı ve boşalma hissi eşlik ediyorsa bu tür yırtıklar genelde cerrahi tedavi için adaydır. Günümüzde menisküs yırtıklarının büyük kısmı cerrahi tedavi edilmektedir; ancak dejeneratif yırtığı bulunan, minör semptomları olan ve sedanter hastalar için

konservatif tedavi gündemde kalmalıdır (93),(94). Ancak; konservatif tedavi kararı alırken hastanın yaşı, yırtığın yeri, yaralanmadan sonra geçen süre, yırtığın tipi ve boyutu dikkatlice gözden geçirilmelidir.

Cerrahi tedavi : Konservatif tedaviyi takiben tekrarlayıcı ağrı, efüzyon ve kilitlenme gibi semptomlar hasta günlük yaşamını ve sportif aktivitelerini kısıtlamaya başladığı anda menisküse yönelik cerrahi tedavi gereksinimi başlamıştır. Kanlanmanın fazla olduğu genç hastalarda, akut, travmatik, tam kat, 1 cm'den uzun periferik ve longitudinal yırtıkların tamir endikasyonu vardır. Menisküs yırtıklarının tedavisinin cerrahi olacağı görüşü ağırlıklı olarak benimsenmiştir. Menisküs yırtığının yerinin, tipinin ve uzunluğunun artroskopik olarak değerlendirilmesi tedaviye karar verilmesinde önemlidir. Günümüzde diz eklemine yönelik cerrahinin en önemli parçasını menisküslerin korunması oluşturmaktadır. Kanlanmanın fazla olduğu periferik yırtıklarda tamir endikasyonu vardır. Kanlanmanın olmadığı santral yırtıklarda ise tedavi genelde menisektomi olduğu halde bazı özel durumlarda iyileşmeyi arttırıcı yöntemler ile bu bölgedeki yırtıklar da tamir edilebilmektedir. Menisektomi; parsiyel, subtotal ve total olarak üç şekilde yapılabilir. Bu cerrahi işlemler damarlanmanın az olduğu santral avasküler bölgedeki yırtıklar, horizontal yırtıklar, 3 mm'den büyük radyal yırtıklar, tamir sonrası iyileşmeyen menisküs yırtıkları ile kompleks yırtıklarda kullanılabilir. Parsiyel menisektomide amaç yırtık veya patolojik menisküs bölümünün ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Yeterli cerrahi takiben semptomlar ortadan kalkar ve sonuca ulaşılır (77),(95). Menisküs eksizyonları O'Connor tarafından, alınan menisküs miktarına göre 3'e ayrılmıştır (Şekil 11) (69).

1- Parsiyel menisektomi, amaç sadece serbest olan menisküs parçası eksize ederek dengeli ve stabil bir menisküs yanında periferik kenar dokuyu da korumaktır. Örnek verecek olursak; avasküler bölgede bir kova sapı yırtıkta serbest yer değiştiren parçanın, flep tarzı bir yırtıkta ise sadece flebin alınması.

2- Subtotal menisektomi, yırtık tipinden ve uzanımından dolayı menisküsün periferik kenarının bir kısmının da eksizyonu gerekmektedir. Bu tür menisektomiye sıklıkla posterior boynuzun kompleks yırtıklarında ihtiyaç duyulmaktadır.

3- Total menisektomi, menisküs tamamıyla çıkarılmaktadır. Bu yöntem eskiden sıklıkla uygulanmaktayken görülen kötü sonuçlar sonrası günümüzde nadiren

kullanılmaktadır. Bu işlem genelde yırtığın çok geniş olduğu ve menisküs içi hasarlanma olduğu ya da meniskosinovyal ayrılmanın olduğu durumlarda yapılmaktadır. Periferik ayrılma saptanırsa eğer ki menisküsler kurtarılabilir durumda ise total menisektomi yerine mutlaka tamir denenmelidir (96).

Parsiyel menisektomi hemen her zaman subtotal veya total menisektomiye tercih edilmelidir. Stabil bir menisküs parçası eklem ilerdeki fonksiyonları açısından önemli katkılar sağlayabilmektedir. Artroskopi sırasında hangi tip menisektomiye ihtiyaç duyulacağının anlaşılabilmesi için yırtık, bir prob yardımı ile kontrol edilerek sınıflandırılmalıdır. Sınıflandırma sonrası amaç menisküsün ne kadarının alınıp ne kadarının bırakılacağına karar vermektir. Amaç hareketli menisküs parçalarını uzaklaştırarak dengeli ve stabil bir menisküs elde edebilmektir. İyileşen menisküsün biyomekanik olarak işlev görebilmesi için; menisküsün geometrisi ve yapısal özellikleri yırtılma öncesi durumuyla aynı olmalıdır. Fibrovasküler bir skarla iyileşen menisküsün elastisitesinde önemli değişimler ortaya çıkar. Menisküs tedavilerindeki son aşama menisküs transplantasyonlarıdır. Meniskal allograft transplantasyonunda (MAT) amaç kırıldak dejenerasyonunu önleyerek ya da bu süreci yavaşlatarak doğal menisküsün yük taşıma özelliklerinin yeniden yaratılmasıdır; ancak MAT ile bu hedefe ulaşıp ulaşılamadığı henüz bilinmemektedir (97). Total ya da subtotal menisektomi uygulanmış hastalar için, MAT uygun bir seçenek olabilir; fakat kısmi menisektomi uygulanan hastalar için uygun değildir. Parsiyel menisektomi uygulanmış bir dizde menisküsün çevresel kısmı sağlamsa; ön ve arka boynuzlarda stabiliteyi sağlayacak yeterli doku varsa sentetik meniskal iskeletlerin (scaffold) implantasyonu ile yapılacak bir rekonstrüktif işlem uygun olabilir (98).

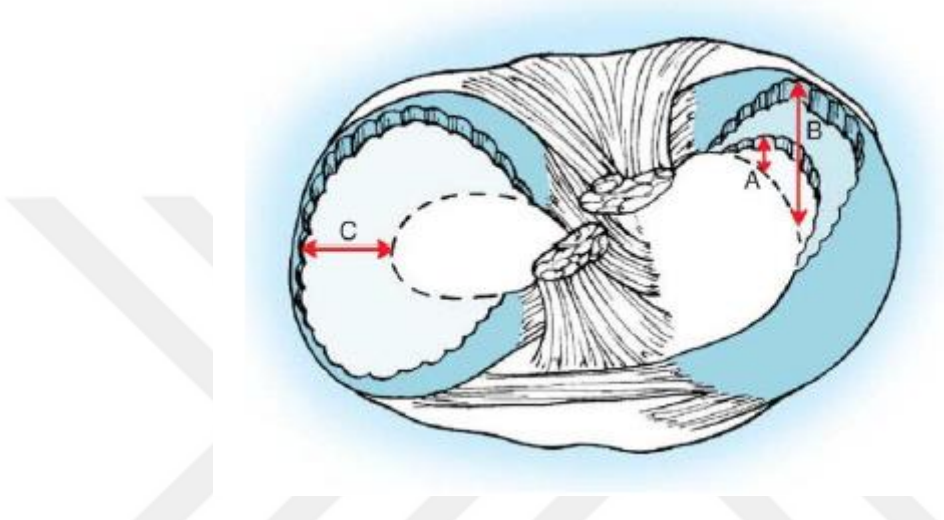
İyileşmeyi Etkileyen Faktörler

-Hastanın Yaşı: Genelde 40-50 yaş üst sınır olarak kabul edilir, ancak menisküsün durumu dejenerasyonun olup olmaması daha önemlidir. İleri yaş bir kontrendikasyon olarak sayılmaz.

-Akut/Kronik Olması: Genelde akut dönemde yapılan tamirlerin sonuçları kronik dönemde yapılanlara göre daha iyidir. Ancak yırtığın yaşının önemli olmadığını belirten yayınlarda vardır (99).

-Yırtık Yerleşimi: En önemli faktördür. Meniskokapsüler bileşkenin 3 mm komşuluğunda KK bölgede olan yırtıklarda başarı şansı yüksektir (100).

-Dizin Stabilesi: Menisküs tamiri sonuçlarının en iyi olduğu hasta grubu aynı seansta ÖÇB rekonstrükte edilen hastalardır. İkinci sırada ise ön çapraz bağı sağlam olan izole yırtıklı hastalar gelir. Bağları sağlam olmayan instabil dizlerde sonuçlar iyi değildir.



Şekil 11. Menisküs eksizyon tipleri. A: Parsiyel menisektomi, B: Subtotal menisektomi, C: Total menisektomi

2.12. MİTOKONDRIYAL DNA (MTDNA)

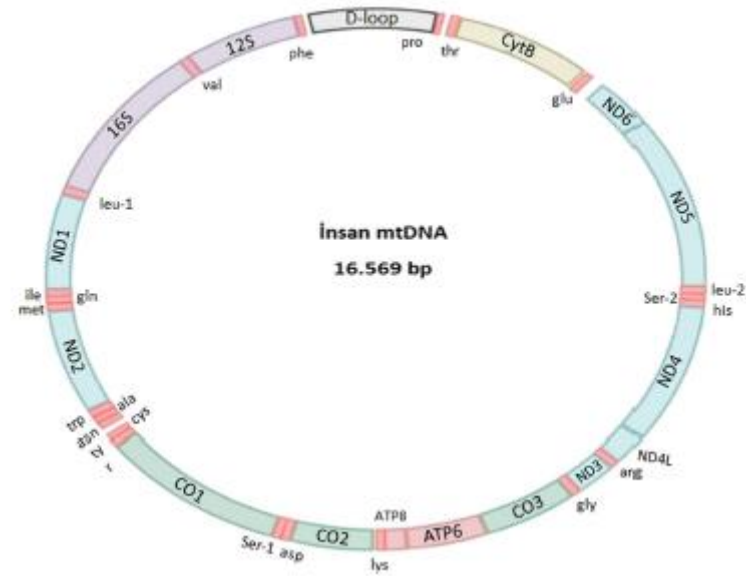
Hücreler, içerisine aldığı besinleri sindirdikten sonra metabolik olayları sürdürüp canlılığını devam ettirebilmek için enerjiye ihtiyaç duyar. Bu ihtiyaç her canlı türünde hücrenin yapısı ve işlevine göre değişiklik göstermektedir. Hücreler bu enerjiyi vücut sıcaklığını korumak için bir yakıt olarak kullandığı bir kimyasal olan adenosin trifosfat (ATP) şeklinde üretir (101). Bu olaylar ökaryotik hücrelerde mitokondri adı verilen kompleks bir organel tarafından gerçekleştirilmektedir. Mitokondriler, Microsporidia gibi bazı ilkel protozoa ve memeli eritrositleri hariç tüm hücrelerde bulunan küresel veya silindirik şeklindeki organellerdir. Mitokondri, ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan, primer fonksiyonu aerobik solunumu gerçekleştirmek ve hücre içi metabolik yollarda kullanılacak hücresel enerjiyi (ATP) sentezlemek olan bir organeldir. Ayrıca, programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ve hücre içi sinyal iletiminde önemli rolü bulunmaktadır (102). Mitokondri ilk kez 19. yüzyılda tanımlanmış, fonksiyonunun anlaşılması ise 1948 yılında mitokondrinin

izolasyonu sonrasında gerçekleşmiştir (103). Mitokondri ile ilgili ilk bilgiler 1841 yılında hücre nükleusunun tanımlanmasından birkaç yıl sonra elde edilmiştir. Özgün yapısı ilk kez 1890 yılında Altmann tarafından tanımlanmış, hücre içinde yaşayan ve hayati fonksiyonları gerçekleştiren organlar olduğu bildirilmiş ve bunlara bioblast adı verilmiştir. Mitokondri terimi ise ilk kez 1898 yılında Benda tarafından kullanılmıştır; bu isim Yunanca iplik anlamına gelen “mitos” ve granül anlamına gelen “chondros” kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuştur. Mitokondrinin şekli (küre) büyüklüğü (çap: 0,2-1 um, uzunlukları: 2-6 um) ve sayısı (1-2000) hücreden hücreye farklılık göstermektedir. Yapısında bulunan çift tabakalı zar iç ve dış membran olarak ayrılmaktadır. Bu iki membranı membranlar arası alan ve matriks adı verilen iki yapı oluşturmaktadır. Matriks, genomik yapının ve oksidatif enzimlerin yoğun olduğu bölgedir (104). Dış membran porin adı verilen proteinler aracılığıyla su ve iyonlar gibi küçük moleküllerin geçişini sağlar. İç membran ise krista denilen mitokondri matriksine doğru kıvrılmış yapılar içerir. Bu yapılar iç membranın yüzeyini genişletmesini sağlayarak hem aktif transport ile geçişin hem de enerji üretiminin yüksek olduğu kısımlardır. Mitokondri hücrede bulunduğu konum itibarıyla, yalnızca oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji üretmekten sorumlu değildir, aynı zamanda apoptoz, kalsiyum homeostazı, doğuştan gelen bağışıklık sinyallerinde ve hücre yaşlanması gibi hücresel fizyolojinin neredeyse tüm yönlerinde önemli bir rol oynar. Buna ek olarak pirimidinler, aminoasitler, fosfolipitler ve nükleotidler gibi metabolitlerin oluşumunda da görev almaktadır. Ayrıca mitokondriyal genom ile nükleus genomunun etkileşimleri, hücre içerisindeki metabolit ve bazı RNA'ların hücre içerisinde taşınmasını sağlamaktadır (105). Ancak günümüzde bu mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır (106).

Mitokondriyal Genom

Mitokondrinin diğer organellerden ayrılan en büyük özelliği kendine ait bir ribozom, DNA ve RNA moleküllerini barındırmasıdır. Mitokondriyal genom ilk kez Chevremeont ve arkadaşları tarafından 1950'lerin sonlarına doğru bildirilirken, ilk mitokondriyal DNA (mtDNA) dizi analizi 1981 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu bilgilerden yola çıkılarak ilk mitokondriyal hastalık, bir nokta mutasyonu (m.3243A>G) sonucu oluşan ve 1988 yılında bildirilen genetik bir nörodejeneratif hastalık olan MELAS sendromudur (107),(108).

MtDNA aynı nükleer DNA (nDNA) gibi çift sarmallı fakat yapısal olarak daireseldir. Ortalama molekül ağırlığı 106 dalton ve yaklaşık 16.5 kb uzunluğundadır. İnsan mtDNA'sı solunum zincirindeki proteinlerden yalnızca 13'ünü kodlamakta, geriye kalan proteinler (~1500) nDNA tarafından kodlanmaktadır. Bu da nükleus ve mitokondri etkileşiminin hücrenin yaşamsal faaliyetleri için ne kadar önemli olduğunu bize göstermektedir. Genetik kodunun nDNA'dan farklı olmasına ek olarak guanin ve sitozin bazları bakımından nDNA'dan daha fazla oranda olması epigenetik açıdan da ilgi çekmektedir (109). İnsan mitokondri genomu, elektron taşıma ve oksidatif fosforilasyonla ilgili gerekli 13 proteini kodlamak için gereken 16S, 12S rRNA ve 22 adet tRNA'yı kodlayan 37 gen içermektedir. 16.569 baz içeren bu genomdaki dış iplikçik purin açısından zengin (ağır iplik (H) olarak adlandırılır) ve iç kısımdaki tamamlayıcı iplik ise pirimidin bakımından zengindir (hafif iplik (L) olarak adlandırılır). Bu iki zincir de kendi başlarına replike olmaktadır ve 37 genden 28'i H-zincirinde, 9'u ise L-zincirinde yer alarak mitokondriyal fonksiyonlarda görev alırlar (Şekil 12).



Şekil 12. Mitokondriyal Genom (MtDNA)

İnsan mitokondrisinde tRNA'ların tümü organel tarafından kodlanırken bitki ve protozoonların mitokondrileri nükleer genom tarafından kodlanan tRNA'ları alıp kullanmaktadır. Ayrıca memeli mtDNA'sı intron bölgeleri içermez. Mitokondri genomlarının kopyaları her ne kadar fazla olsa da büyüklükleri ve sayıları türler

arasında farklılık göstermektedir. Ancak genomun boyutu ile genetik bilgi arasında doğrusal bir ilişki bulunmamakla birlikte mtDNA total hücresel DNA'nın %1'lik kısmından daha azını oluşturmaktadır. Mitokondriyal genler maternal kalıtım gösterirler (110),(111). Mitokondriyal genetik materyal maternal yolla kalıtılır ve rekombinasyona uğramaz. Matür oositlerde yaklaşık 100,000 mtDNA kopyası bulunur. Ayrıca mtDNA'nın evrimsel süreçte değişim oranı nükleer DNA'ya göre daha fazladır. Mitokondriyal DNA'da, nükleer DNA'ya göre mutasyon sıklığı daha fazladır. Bunun sebepleri arasında; mtDNA'nın koruyucu histonlarının olmaması, ortamda oksijen radikallerinin yoğun olması, ortamda birçok metabolitin mevcut olması, koruyucu ve onarıcı mekanizmalarının yetersiz olması sayılabilir (112). Mitokondriyal çalışmalardaki zorluklardan birisi mitokondrinin hücre içinde birden fazla mitokondriyal genom bulundurmasıdır. Bu genomlardan bir tanesi mutasyona uğramış halde iken diğeri mutasyona maruz kalmadan varlığını sürdürebilir. Mitokondriyal genomun bu durumuna heteroplazmi adı verilir (113). Yapılan çalışmalarda, kuşaklar arasında heteroplazmi oranının hızlı bir şekilde değişim gösterdiği saptanmıştır.

MtDNA'da oksidatif hasar ve bu hasara bağlı mutasyonların yaşlanma sürecinde önemli olduğu ve mitokondrilerin yaşlanmada anahtar rol oynadıkları Miquel ve ark. tarafından 1980'de açıklanmıştır (114). Günümüze dek yapılmış olan araştırmalar fizyolojik yaşlanma, prematür yaşlanma semptomları; Alzheimer hastalığı, diyabet, kalp yetersizliği, sağırılık, optik sinir dejenerasyonu, birçok ilerleyici kas hastalığı ve kanser gibi yaşlanma ile sıklıkları artan hastalıkların mutasyona uğramış DNA içeren disfonksiyonel mitokondrilerin varlığı ile ilgili olduğunu ortaya koymuştur (115),(116). Yaşlanma ile mitokondrilerde büyüme, matrikste vakuolizasyon, kristalarda kısalma ve yoğun granüllerin kaybı gibi histolojik değişiklikler de görülür (117). Nörolojik, kardiyovasküler ve kassal fonksiyonlarda yaşlanma ile meydana gelen yetersizlikler ve sonuçta gelişen nörodejeneratif, kardiyovasküler ve kas hastalıklarında mitokondri fonksiyonlarındaki bozulma ve yetersizlik önemlidir (118). Yaşlanma; genler, çevre ve yaşam hikayesinin etkileşimleri ile şekillenen multifaktöryel bir süreçtir. Ancak, yaşanan süre, bu süre içindeki somatik dejenerasyonlar (intrinsik yaşlanma) ve hastalıklar her birey için aynı değildir. Özellikle mitokondrinin taşıdığı maternal geçişli olan mtDNA'sının taşıdığı genetik bilgi önemlidir (119).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapmış olduğumuz prospektif çalışmada, mtDNA varyantları ile dejeneratif menisküs yırtığı arasında bir ilişki olup olmadığını saptamayı amaçladık. Çalışmamızda; travmatik menisküs yırtığı olan 18-45 yaş aralığındaki 17 hastadan ve dejeneratif menisküs yırtığı olan 18-45 yaş aralığındaki 20 hastadan artroskopik cerrahi girişim esnasında debridman amaçlı alınan menisküs dokusu ile periferik kan örneği alındı, izole ön çapraz bağ rüptürü nedeniyle cerrahi girişim yapılan 18-45 yaş aralığındaki 22 hastadan da sadece periferik kan örneği alınarak numunelerden mtDNA dizileme analizi yapıldı.

Yaptığımız tez çalışmasının etik uygunluğu Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurul tarafından 06.11.2020 tarih ve 2020/407 sayılı kararı ile onaylanmış ve çalışma, proje no: 20.TUS.010 ile AFSÜ BAPK tarafından desteklenmiştir. Çalışmamız Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı ve Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı ile multidisipliner olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Çalışmamızın grupları etik kurul onayı alındıktan sonra Nisan 2021-Nisan 2022 tarihleri arası Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Polikliniği'ne çeşitli diz semptomları ile başvuran hastalardan oluşturulmuştur. Buna göre;

çalışmaya alınacak hastaların dahil edilme kriterleri:

1. 18-45 yaş aralığında olması,
2. Travmatik ya da dejeneratif menisküs yırtığının olması,
3. Ön çapraz bağ yırtığının olması, menisküs yırtığının olmaması,
4. MRG'de menisküs hasarı olması,
5. Muayenede eklem aralığında hassasiyet ve pozitif McMurray testi olması,

çalışmaya alınacak hastaların dışlama kriterleri:

1. 18 yaş altı, 45 yaş üstünde olması,
2. İnflamatuvar eklem hastalığına sahip olması,
3. Aynı dizden daha önce cerrahi geçirmiş olması olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın dahil etme ve dışlama kriterlerine göre belirlenen travmatik menisküs yırtığı olan 17 hastadan, dejeneratif menisküs yırtığı olan 20 hastadan ve izole ön çapraz bağ rüptürü olan 22 hastadan çalışma şartları detaylı olarak sözel ve yazılı olarak anlatıldıktan sonra Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) imzalatıldı. Böylece hasta grupları oluşturulması tamamlandı.

A Grubu : Travmatik menisküs yırtığı olan 17 sayıdaki hastadan oluşmakta,

B Grubu : Dejeneratif menisküs yırtığı olan 20 sayıdaki hastadan oluşmakta,

C Grubu : İzole ÖÇB yırtığı olan 22 sayıdaki hastadan oluşmaktadır.

Çalışma kapsamında, ilgili cerrahi operasyon işlemi sırasında herhangi bir ek müdahale gerekmeden ve/veya herhangi bir ek medikal ajan uygulanmadan artroskopik cerrahi girişimi esnasında debridman amaçlı alınan menisküs dokusu materyal olarak kullanılmıştır. Menisküs dokusundan, travmatik menisküs yırtığı olan 17 hastaya ait menisküs dokusu ve dejeneratif menisküs yırtığı teşhisi konmuş 20 hastaya ait menisküs dokusu kullanılmıştır. Söz konusu hastalardan cerrahi girişim sırasında mecburen açılmış olan venöz damar yolundan da 2'şer adet EDTA'lı tüplere 2'şer ml periferik kan örneği alınmıştır. Ek olarak izole ön çapraz bağ yırtığı sebebiyle cerrahi girişim uygulanan 22 hastadan mecburen açılmış olan venöz damar yolundan da 2'şer adet EDTA'lı tüplere 2'şer ml periferik kan örneği alınmıştır. Alınan menisküs doku ve periferik kan örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2. CERRAHİ PROSEDÜR VE ÖRNEK ALINMASI

Artroskopi yapılacak hastalar bir gün önce servise yatırılarak gerekli ameliyat öncesi hazırlıklar yapıldı. Tüm hastalara ameliyattan 30 dakika önce enfeksiyon profilaksisi için 1 gr Sefazolin iv yapıldı. Ameliyattan sonra ise profilaktik antibiyotik 24 saate tamamlanacak şekilde devam edildi. Ameliyatta kullanılacak artroskopi ve

ÖÇB tamir setlerinin steril ve çalışır durumda oldukları kontrol edildi. Hastalar supine pozisyonunda ameliyat masasına alındı. Tüm hastalara spinal veya genel anestezi uygulandı. Ameliyat masasına yerleştirilen destek ile femur sabitlendi. Cerrahi taraf uyluk kısmına pnömatik turnike yerleştirildikten sonra diz operasyonda fleksiyona gelecek şekilde masa ayarlandı. Ön çapraz bağ cerrahisi için masa alt destek kısmı bırakıldı (Şekil 13), izole artroskopik işlemler için masa alt desteği alınarak diz yan destekle sabitlendi ve aşağıya sarkıtıldı (Şekil 14). Cerrahi sahaya cilt temizliği yapıp operasyon alanının çevresi steril bir şekilde örtüldü (Şekil 15-16). Pnömatik turnike şişirildi. Artroskopi deneyimli ortopedist tarafından, 30 derece sloplu artroskop ile yapıldı.



Şekil 13. ÖÇB cerrahisi için preoperatif hazırlık aşaması



Şekil 14. Dejeneratif ve travmatik menisküs yırtığı cerrahisi için preoperatif hazırlık aşaması



Şekil 15. Gtöi sonrası cerrahi alan görünümü



Şekil 16. Gtöi sonrası cerrahi alan görünümü

Diz içine standart anterolateral girişten skop yerleştirildikten sonra diz ekstansiyonda iken önce supra-patellar boşluk gözlendi. Daha sonra patello-femoral ekleme gelinerek patellofemoral eklem yüzleri ve patellofemoral uyum değerlendirildi. Diz 90° fleksiyonda iken skop medial eklem aralığına kaydırıldı ve anteromedial portal açıldı. Medial eklem muayenesinden sonra çapraz bağlar değerlendirildi. Daha sonra lateral eklem aralığına geçildi, lateral eklem aralığı muayenesi yapıldı. Herhangi bir müdahaleden önce tüm diz içi yapılar prob ile kontrol edildi. Tamir öncesi menisküs yırtığı artroskopik probu ile muayene edilerek yırtığın lokalizasyonu, tipi, stabilitesi, menisküs dokusunun kalitesi, varsa artroskopik kondropati evresi belirlendi. Tüm hastaların tanısal artroskopileri sırasında eşlik edebilecek diğer eklem içi patolojileri dikkatli ve ayrıntılı bir biçimde değerlendirildi. İntraoperatif artroskopik değerlendirme sonrası tamir edilemeyecek şiddette dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalarda yapılmaya karar verilen menisektomi işlemi esnasında elde edilen menisküs dokuları patoloji numunesi olarak alındı (Şekil 17). Ardından uygun seviye menisektomi işlemi gerçekleştirildi. Yine aynı şekilde

travmatik oluşmuş ve tamir edilemeyecek menisküs yırtığı olan (Şekil 18) hastalarda yapılmaya karar verilen menisektomi işlemi esnasında elde edilen menisküs dokuları patoloji numunesi olarak alındı (Şekil 19). Ardından uygun seviye menisektomi işlemi gerçekleştirildi. İzole ön çapraz bağ rüptürü olan ve cerrahi yapılması planlanan hastalar da rutin girişimsel artroskopi sonrası menisküs yırtığı olmadığı netleştirildi. Bu hastalarda standart ön çapraz bağ rekonstrüksiyon işlemi yapıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan cerrahi işlem hemen başında 2'şer adet EDTA'lı tüplere 2'şer ml periferik kan örneği alındı (Şekil 20).



Şekil 17. Dejeneratif Menisküs Yırtığının Görünümü



Şekil 18. Travmatik Menisküs Yırtığının Görünümü



Şekil 19. Menisküs doku patoloji örneğinin saklanması



Şekil 20. Periferik kan numunesinin saklanması

3.3. TÜM MITOKONDRIYAL DNA DİZİLEME ANALİZİ

Grup aşaması belirlenmesi sonrası yapılan cerrahi prosedürler ile patolojik materyaller elde edildi. Alınan menisküs doku örnekleri DNA izolasyonu yapıncaya kadar -20°C 'de saklandı. Periferik kan örnekleri DNA izolasyonu yapıncaya kadar -20°C 'de saklandı. Çalışma kapsamında hastalardan alınan doku ve kan örneklerinde

tüm mitokondriyal DNA dizileme analizine ilişkin işlem basamakları Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerini tarafından desteklenen 20.TUS.010 no’lu projeye ait hizmet alımı kapsamında İNTERGEN Genetik ve Nadir Hastalıklar Tanı Araştırma & Uygulama Merkezi’nde yapıldı. Sitogenetik analiz için tablo 1’de belirtilen cihazlar kullanıldı.

Tablo 1. Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Marka-Model
Thermal Cyler	LongGene-A300
Spektrofotometre	NanoDrop ND--1000
Santrifüj	Eppendorf- Centrifuge 5415R
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu	Arçelik
Mikropipetler	Eppendorf-research plus
Vorteks	Biosan-Combi-Spin
Yeni Nesil Dizileme Cihazı	Miseq- Illumina equipment

Çalışmada, hasta gruplarında mtDNA dizileme analizi için; MN NucleoSpin® Blood Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co, GERMANY), DNA izolasyonu için ve New England Biolabs’ OneTaq DNA Polymerase (USA) kiti PZR reaksiyonu için kullanıldı (Tablo 2 ve Tablo 3).

Tablo 2. MN NucleoSpin® Blood Kit İçeriği

Solüsyon	Miktar
B3	10 mL
B5	6 mL
BE	13 mL
BW	6 ml
Proteinase K	1-75 mg

Tablo 3. OneTaq DNA Polymerase Miks İçeriği

Solüsyon	Hacim (µl)
dH ₂ O	15,3
5x buffer	5
GC Enhancer	5
MgCl ₂	0,5
dNTPs (25mM)	0,2
OneTaq enzim	0,2
Toplam	26,2

Bu çalışmada, dejeneratif menisküs ve travmatik menisküs yırtığı olan hastalardan artroskopik cerrahi girişimi esnasında debridman amaçlı alınan menisküs dokusu ile periferik kan örneğinden ve ön çapraz bağ cerrahi girişimi yapılan hastaların periferik kan örneğinden mtDNA dizileme analizi yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Deneysel aşamaların uygulama sırası aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır.

3.3.1. DNA İzolasyonu

Kandan ve dokudan DNA izolasyonu MN NucleoSpin® Blood Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co.) ile protokolüne uygun olarak yapıldı.

3.3.1.1. Kandan DNA İzolasyonu

- 200 µl kan örneğini 1.5 ml ependorfa alındı ve üzerine 25 µl Proteinaz K eklendi.
- Karışımın üzerine 200 µl B3 buffer eklendikten sonra 10-20 saniye vortekslendi.
- Örnek 70°C’de 15 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonrasında DNA bağlanma aşaması için 210 μ l %100 etanol eklendi.
- NucleoSpin® Blood Column toplama tüpüne yerleştirilir ve örnek kolona yüklendi.
- 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj sonrasında toplama tüpündeki sıvı boşaltıldı.
- İlk yıkama için kolona 500 μ l BW buffer yüklenir. Örnekler 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpündeki sıvı boşaltıldı ve ikinci yıkama için 500 μ l B5 buffer eklendi.
- Toplama tüpü boşaltıldı ve kalan etanolden kurtulmak ve membranı kurutmak için 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- Elüsyon için kolon yeni bir 1.5 ml ependorfa alındı ve 50 μ l önceden ısıtılmış (70 °C) BE buffer kolona eklenir ve 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- İzolasyon sonrası elde edilen her örnek için DNA miktar ve saflık tayini spektrofotometre (Nanodrop ND--1000) kullanılarak ölçüldü.
- Elde edilen DNA örnekleri etiketlenerek analize kadar -20 0C’de saklandı.

3.3.1.2. Dokudan DNA İzolasyonu

- Doku parçaları petri kabında ezildi.
- 1.5 ml ependorfa alındı, PBS ile hacim 200 μ l’ye tamamlandı ve üzerine 50 μ l Proteinaz K eklendi.
- Karışımın üzerine 200 μ l B3 buffer eklendikten sonra 10-20 saniye vortekslendi.
- Örnek 56°C’de 4-5 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında DNA bağlanma aşaması için 200 μ l %100 etanol eklendi.
- NucleoSpin® Blood Column toplama tüpüne yerleştirilir ve örnek kolona yüklendi.
- 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj sonrasında toplama tüpündeki sıvı boşaltıldı.
- İlk yıkama için kolona 500 μ l BW buffer yüklenir. Örnekler 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpündeki sıvı boşaltıldı ve ikinci yıkama için 500 μ l B5 buffer eklendi.

- Toplama tüpü boşaltıldı ve kalan etanolden kurtulmak ve membranı kurutmak için 11,000 rpm’de 2-3 dakika santrifüj edildi.
- Elüsyon için kolon yeni bir 1.5 ml ependorfa alındı ve 50 μ l önceden ısıtılmış (70 °C) BE buffer kolona eklenir ve 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- İzolasyon sonrası elde edilen her örnek için DNA miktar ve saflık tayini spektrofotometre (Nanodrop ND--1000) kullanılarak ölçüldü.
- Elde edilen DNA örnekleri etiketlenerek analize kadar -20 0C’de saklandı.

3.3.2. MtDNA Amplifikasyonu- Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Uzunluğu 4000 ila 12000 baz çifti arasında değişen mtDNA bölgeleri İntergen’de tasarlanmış ve kullanılan dört primer çifti ile çoğaltıldı. Kullanılan solüsyon karışımı tablo 4’te, reaksiyon koşulları da tablo 5’te belirtilmiştir.

Tablo 4. Reaksiyon karışımı

Bileşenler	1x Reaksiyon için
Enzim mix *	20 μ l
İleri primer (50 μ M)	2 μ l
Geri primer (50 μ M)	2 μ l
DNA	2 μ l
Toplam	26 μ l

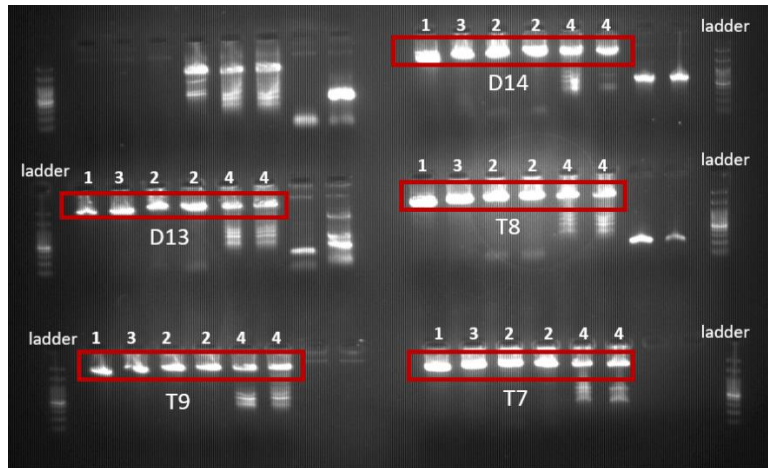
*Enzim mix, polimeraz, dNTP ve tampon solüsyon içerir.

Tablo 5. Reaksiyon Koşulları

Aşama	Sıcaklık	Süre	
1.	95°C	0:01:00	
2.	95°C	0:00:10	↑ ↓
3.	60°C	0:00:10	
4.	72°C	0:00:20	
5.	Aşama 2-4 arası 44 döngü		
6.	72 °C	0:01:00	
7.	20 °C	∞	

3.3.2.1. PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi

PZR ürünleri etidyum bromür ile boyanmış %2 yoğunlukta (kütle/hacim) agaroz içeren jelde agaroz jel elektroforez yöntemi sayesinde görüntülendi (Şekil 21).



Expected size (bp)
Amplicon 1: ~3500
Amplicon 2: ~5500
Amplicon 3: ~4500
Amplicon 4: ~4000

Şekil 21. Menisküs doku örneklerinden elde edilen PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü

3.3.2.2. PZR Ürünlerinin Pürifikasyonu

PZR ürünleri 96-kuyucuklu plakalara (Macherey-Nagel GmbH & Co.- NucleoFast 96 PCR Plate, 96-well ultrafiltration plate for PCR clean up) yüklendikten sonra vakum bazlı bir yöntemle membrandan geçirildi. Elüsyon için distile su kullanılarak DNA'lar yeni tüplerde toplandı. Konsantrasyon değerleri florimetrik olarak ölçüldü.

3.3.3. Tüm MtDNA Dizileme ve Analizi

-Tüm Mitokodriyal DNA Dizileme İçin Örnek Hazırlama:

Standardize edilen örnek, illumina firmasının Nextera XT örnek hazırlama kiti ve DNA dizileme kiti içinde bulunan indeksleme primerleri kullanılarak, yeni nesil dizilemeye hazır hale getirildi. Nextera XT kiti, çift zincir küçük DNA parçalarını yine çift zincir DNA içerisine rastgele ekleyen transpozaz enzimi bazlı bir kittir. Bunun için saflaştırılmış ve 0,2 ng/µl konsantrasyona seyreltilmiş PZR ürünleri, transpozaz enzimi ve bir tampon çözelti ile karıştırıldı ve 55 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra karışım üzerine PZR master miksi ve indeksleme primerleri eklenerek 12 döngülük kısa bir PZR yapıldı. Bu PZR aşamasında hem yeni nesil dizileme için gerekli dizi ve PZR primerleri, hem de örneklerin birbirinden ayrılmasını sağlayan indeks dizileri eklendi. PZR sonrasında örnekler magnetik boncuk tabanlı bir pürifikasyon metodu ile pürifiye edilmiştir. Bu yöntemde PZR ürünleri olan ampliconlar, uygun şartlar altında silika kaplı mikrometre boyutundaki küçük demir bazlı boncuklara bağlandı ve bir mıknatıs yardımı ile diğer istenmeyen maddelerden ayrıldı. Pürifiye edilmiş örnekler florometre yardımı ile hassas bir şekilde ölçüldü (Qubit cihazı ile). Bu aşamada florasan özellik gösteren bir çift zincir DNA boyası ile DNA karıştırıldı, elde edilen ışıma miktarı kitin içinden çıkan standartlar ile karşılaştırılarak hassas bir şekilde konsantrasyon tayini yapıldı. Ölçülen örnekler eşit miktarda olacak şekilde karıştırıldı. Karışım tekrar florometre ile ölçüldü.

-Yeni Nesil Dizileme:

Dizileme çalışması Miseq- Illumina equipment (Illumina, San Diego, CA, USA) cihazı kullanılarak imalatçı firmanın protokolü takip edilerek yapıldı. Hazırlanan ve ölçülen örnek karışımından 30 ng alındı. 1 ml hibridizasyon tamponu

ve 2 µl 1M NaOH ile karıştırıldı. Karışım 95 °C'de 2 dakika inkübe edilerek denatüre edildi, 2 dakikanın hemen sonunda 5 dakika buzlu su karışımı olan buz banyosunda bekletildi. 5 dakika sonunda karışım, yeni nesil dizilemede kullanılacak olan ve önceden -20 °C'den çıkartılarak çözölmüş olan Illumina firmasının 300V2 kartuşunun ilgili kuyusuna eklendi. Örneklerin eklenmiş olduğu dizileme kartuşu, dizilemenin gerçekteşeceği flow-cell ve yıkama tamponu, Miseq cihazının ilgili bölömlerine yerleştirilip dizileme başlatıldı.

-Veri Analizi:

Elde edilen yeni nesil dizileme okumalarının demultipleks aşaması (indekslere göre dizilerin örnekler arasındaki ayrımı ve sonrasında fastq dosyalarının oluşturulması) ve alignment'ı (.bam ve .bai dosyalarının oluşturulması), hg19 insan genomu versiyonu üzerine ve Miseq Reporter (illumina Inc.) yazılımı ile otomatik olarak Miseq cihazında yapıldı. Hizalanmış .bam dosyalarının analizi ise IGV 2.3 (Broad Institute) yazılımı kullanılarak yapıldı ve bulunan varyantlar klinik ve istatistik değeriendirmeler için kaydedildi. Analiz için İntergen'de oluşturulan primerler aralığında mitokondriyal DNA üzerinde 15458 nokta üzerindeki polimorfizm veya mutasyonlar kontrol edildi.

-Parametreler:

Minimum derinlik: ≥ 200 okuma

Varyant için minimum eşik değeri: $\geq \%6$

Varyant için minimum derinlik: ≥ 20 okuma (hem ileri hem geri oryantasyonda)

Yeni nesil sekanslama (NGS) analizi sonucunda elde edilen değışikliklerin “mutasyon” – “polimorfizm” ayrımı 2015 yılından önce basit bir şekilde sadece allel frenkansı sıklığı ile yapılmaktayken 2015 yılında American College of Medical Genetics (ACMG) tarafından guideline yayınlandıktan sonra varyantların ayrıma “mutasyon” – “polimorfizm” olmaktan çıkıp “pathogenic”, “likely pathogenic”, “VUS - Variant of Uncertain Significance”, “likely benign”, “benign” olarak sınıflandırılmaya başlamıştır. En son yayınlanan ACMG sınıflamasına göre proteinin evrimsel korunmuşluğu, toplumdaki minor allel frenaksı, varyantın gen içersindeki yeri (ekzon, intron, splice bölge, düzenleyici bölgeler gibi), varyantın protein değışikliği türü (sinonim, missense, nonsense gibi), varyantın hastalık yapıcı etkisi

daha önce bildirilmesi gibi çok çeşitli parametlerin bir araya getirilmesi ile yeniden düzenlenmiştir. Bu sınıflamada varyantın patojenitesi için 4 ayrı alt sınıflama ve bu sınıflamanın içinde de alt sınıflamalar yapılmıştır. Benign karakteri için ise 3 ayrı alt sınıflama ve yine onun içinde de ayrı alt gruplar oluşturulmuştur. Bu gruplamalara göre varyantın alacağı toplam değerlendirme sonucunda “pathogenic”, “likely pathogenic”, “VUS - Variant of Uncertain Significance”, “likely benign”, “benign” olarak sınıflandırılmaktadır (120).

Bu bilgiler ışığında, elde edilen veriler Amerikan Genetik ve Genomik Yüksekokulu (American College of Medical Genetics and Genomics) veri tabanına göre varyant çeşitliliği belirlenmiştir. Buna göre varyasyonlar tablo x de belirtildiği gibi, olası-benign, benign, VUS, olası-patojenik, patojenik olarak sınıflandırılmıştır (120). Olası-benign ve benign aynı grup, olası-patojenik ve patojenik de aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir.

Tablo 6. Varyasyon Sınıflaması (120)

Terminoloji Sınıflaması	Patojenite Olasılığı
Benign	<0.1%
Olası Benign	0.1% - 10%
VUS	10% - 90%
Olası Patojenik	90% - 99%
Patojenik	>99%

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada tanımlayıcı istatistik olarak nitel veriler için sayı ve yüzde, nicel veriler ise aritmetik ortalama ve standart sapma veya ortanca-çeyrekler arası aralık değerleri olarak sunulmuştur. Gruplar arası kategorik verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Normal dağılım gösteren nicel verilerin gruplara arası karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi veya ANOVA testi, normal dağılım göstermeyen nicel verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi veya Kruskal Wallis testi kullanıldı. Sunulan tüm p değerleri iki yönlü olup $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK BULGULAR

Çalışmamızın grupları etik kurul onayı alındıktan sonra Nisan 2021-Nisan 2022 tarihleri arası Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Polikliniği'ne çeşitli diz semptomları ile başvuran hastalardan oluşturulmuştur. Çalışmanın dahil etme ve dışlama kriterlerine göre belirlenen travmatik menisküs yırtığı olan 17 hastadan, dejeneratif menisküs yırtığı olan 20 hastadan ve izole ön çapraz bağ rüptürü olan 22 hastadan çalışma şartları detaylı olarak sözel ve yazılı olarak anlatıldıktan sonra Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) imzalatıldı. Böylece hasta grupları oluşturulması tamamlandı.

Çalışma kapsamında hastalar ve demografik bilgiler değerlendirilip analiz yapıldığında (Tablo 6-7-8);

Tüm çalışma gruplarında 42 (% 71,2) erkek, 17 (%28,8) kadın yer almaktadır. A grubunda 11 (%64,7) erkek, 6 (%35,3) kadın yer almakta. B grubunda 9 (%45) erkek, 11 (%65) kadın yer almakta ve C grubunda 22 (%100) erkek, 0 kadın yer almaktadır.

Tüm çalışma gruplarında ortalama yaş 34,9 (19-45) olarak saptanmış olup A grubunda 37 (19-45), B grubunda 39,3 (27-45), C grubunda 29,2 (19-45) olarak bulunmuştur.

Tüm çalışma gruplarında 19 (%32,2) sayıda hasta sigara içekte iken A grubunda 4 (%6,7), B grubunda 4 (%6,7), C grubunda 11 (%18,6) olarak bulunmuştur.

Tüm çalışma gruplarında VKİ 27,21 kg/m² (20,06-39,06) olarak saptanmış olup A grubunda 27,83 (21,6-34,96), B grubunda 28,58 (21,11-39,06), C grubunda 25,49 (20,06-30,37) olarak bulunmuştur.

Tablo 7. A Grubu Demografik Bilgiler

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	VKİ	Sigara
A1	K	43	33,2	-
A2	K	45	28,65	-
A3	K	45	29,01	-
A4	E	39	29,86	-
A5	E	41	24,9	-
A6	E	19	22,53	-
A7	E	39	26,26	+
A8	E	28	22,39	-
A9	K	36	33,3	
A10	E	38	29,63	+
A11	E	40	25,83	-
A12	E	35	25,34	+
A13	K	45	34,96	-
A14	E	32	31,31	+
A15	E	30	25,31	-
A16	E	37	25,31	-
A17	K	37	25,95	-

Tablo 8. B Grubu Demografik Bilgiler

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	VKİ	Sigara
B1	E	38	26,42	+
B2	K	44	29,05	-
B3	K	39	39,06	-
B4	K	36	21,11	+
B5	E	28	29,01	-
B6	E	42	24,46	-
B7	K	43	25,95	-
B8	E	27	27,72	-
B9	K	45	30,86	-
B10	E	34	29,48	-
B11	E	33	28,62	+
B12	K	41	29,76	-
B13	K	41	28,28	-
B14	E	41	28,28	-
B15	K	45	25,95	-
B16	E	41	27,03	-
B17	K	42	32,89	-
B18	K	46	24,09	-
B19	K	42	38,67	+
B20	E	38	24,91	-

Tablo 9. C Grubu Demografik Bilgiler

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	VKİ	Sigara
C1	E	28	25,47	+
C2	E	39	26,49	-
C3	E	34	23,84	+
C4	E	30	28,09	+
C5	E	26	20,06	+
C6	E	25	25,03	-
C7	E	33	27,17	-
C8	E	19	24,42	-
C9	E	40	29,04	+
C10	E	29	26,37	-
C11	E	24	31,32	+
C12	E	20	20,59	+
C13	E	28	28,4	+
C14	E	29	23,46	-
C15	E	24	22,1	-
C16	E	33	26,83	-
C17	E	45	30,37	-
C18	E	26	27,68	-
C19	E	32	27,68	+
C20	E	39	54,93	-
C21	E	21	25,97	+
C22	E	20	20,81	+

4.2. TÜM MİTOKONDRIYAL DNA DİZİLEME VE ANALİZ BULGULARI

A, B ve C grupları varyantlar açısından değerlendirildiğinde; tüm gruplarda elde edilen numunlerden 29 adet farklı gende 127 adet farklı varyant belirlenmiş ve toplamda 216 adet varyant saptanmıştır. Saptanan bu varyantlardan 187 kadarı benign iken 21 VUS olup 8 kadarı patojenik olarak saptanmıştır (Tablo 9).

Tablo 10. Gruplar Arası Varyant Dağılımı

	BENİGN		VUS		PATOJENİK	
	KAN	DOKU	KAN	DOKU	KAN	DOKU
A	32	41	2	1	0	1
B	32	33	7	6	3	2
C	49	-	5	-	2	-

A, B ve C grupları varyant açısından değerlendirildiğinde; A grubunda toplam 77 adet mtDNA varyant saptanmış, B grubunda toplam 83 adet mtDNA varyant saptanmış, C grubunda toplam 56 adet mtDNA varyant saptanmıştır.

A, B ve C grupları varyant açısından değerlendirildiğinde; A grubunda toplam 77 adet mtDNA varyant olup bunlardan 34 adet varyant kan örneğinden 43 adet varyant ise doku örneğinden elde edilmiştir. B grubunda toplam 83 adet mtDNA varyant olup bunlardan 42 adet varyant kan örneğinden 41 adet varyant ise doku örneğinden elde edilmiştir, C grubunda toplam 56 adet mtDNA varyantı olup bunların tamamı kan numunesinden elde edilmiştir.

A, B ve C grupları varyant dağılımı açısından değerlendirildiğinde; A grubunda toplam 77 adet mtDNA varyanttan 73 adet benign, 3 adet VUS, 1 adet patojenik varyant saptanmış, B grubunda toplam 83 adet mtDNA varyantından 65 adet benign 13 adet VUS 5 adet patojenik varyant saptanmış, C grubunda toplam 56 adet mtDNA varyantından 49 adet benign 5 adet VUS 2 adet patojenik varyant saptanmıştır.

Tüm varyantlar değerlendirildiğinde Tablo 9'a göre A grubunda 77 adet varasyon saptanmıştır. Toplam varyanta göre oranı %35,64 olmaktadır. Saptanan bu varyantlardan 35 tanesi bu gruba özgü olarak dikkat çekmektedir. A grubuna özgü saptanan varyantlardan 3 tanesi yalnız kan numunesinden (Tablo 10), 12 tanesi yalnız doku numunesinden (Tablo 11) elde edilmiştir.

Tablo 11. A grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	Gen	ACMG
15968T>C	NC_012920.1(MT-CYB):m.15968T>C	CYB geni	Benign
6259A>G	NC_012920.1(MT-CO1):m.6259A>G	CO1 geni	VUS
8473C>A	NC_012920.1(MT-8473C>A ATP8):m.	ATP8 geni	Benign

Tablo 12. A grubuna Özgü ve Doku Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	Gen	ACMG
10044A>G	NC_012920.1(MT-TRNG):m.10044A>G	TRNG geni	Benign
12140A>G	NC_012920.1(MT-TRNH):m.12140A>G	TRNH geni	Benign
15404T>C	NC_012920.1(MT-CYB):m.15404T>C	CYB geni	VUS
15534A>G	NC_012920.1(MT-CYTB):m.15534A>G	CYTB geni	Benign
2702G>A	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2702G>A	RNR2 geni	Benign
2758G>A	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2758G>A	RNR2 geni	Benign
669T>C	NC_012920.1(MT-RNR1):m.669T>C	RNR1 geni	Olası Patojenik
8472C>A	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8472C>A	ATP8 geni	VUS
8584G>A	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8584G>A	ATP6 geni	Benign
11963G>A	NC_012920.1(MT-ND4):m.11963G>A	ND4 Geni	Benign
14316T>C	NC_012920.1(MT-ND6):m.14316T>C	ND6 Geni	Benign
8557G>A	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8557G>C	ATP6 Geni	Benign

Tüm varyantlar değerlendirildiğinde Tablo 9’a göre B grubunda 83 adet varyant saptanmıştır. Toplam varyantlara göre oranı % 38,4 olmaktadır. Saptanan bu varyantlardan 38 adeti bu gruba özgü olarak dikkat çekmektedir. B grubuna özgü saptanan varyantlardan 35 adeti kan numunesinden, 34 adeti doku numunesinden elde edilmiştir (Tablo 12-13-14). Tablo 14’te ise yalnız B grubu doku ve kan birlikte görülen varyantlar verilmiştir.

Tablo 13. B grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	Gen	ACMG
15437G>A	NC_012920.1(MT-CYB):m.15437G>A	CYB geni	VUS
3736G>A	NC_012920.1(MT-ND1):m.3736G>A	ND1 geni	VUS? Olası Patojenik?
4924G>A	NC_012920.1(MT-ND2):m.4924G>A	ND2 geni	Benign
6899G>A	NC_012920.1(MT-CO1):m.6899G>A	CO1	Benign

Tablo 14. B grubuna Özgü ve Doku Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	Gen	ACMG
3499A>C	NC_012920.1(MT-ND1):m.3499A>C	ND1 geni	Olası Benign
9064G>A	NC_012920.1(MT-ATP6):m.9064G>A	ATP6 geni	Benign
8373A>C	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8373A>C	ATP8 geni	Olası Benign

Tablo 15. B grubuna Özgü, Doku ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	Gen	ACMG
10084T>C	NC_012920.1(MT-ND3):m.10084T>C	ND3 geni	Benign
1053A>G	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1053A>G	RNR1 geni	Olası Benign
10750A>G	NC_012920.1(MT-ND4L):m.10750A>G	ND4L geni	Benign
1118A>G	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1118A>G	RNR1 geni	Benign
11447G>A	NC_012920.1(MT-ND4):m.11447G>A	ND4 geni	Benign
12280A>G	NC_012920.1(MT-TRNL2):m.12280A>G	TRNL2 geni	Benign
13759G>A	NC_012920.1(MT-ND5):m.13759G>A	ND5 geni	Benign
13943C>T	NC_012920.1(MT-ND5):m.13943C>T	ND5 geni	Benign
13967C>T	NC_012920.1(MT-ND5):m.13967C>T	ND5 geni	VUS
15281T>C	NC_012920.1(MT-CYB):m.15281T>C	CYB geni	Olası Benign
2010T>C	NC_012920.1(MT-RNR2):m. 2010T>C	RNR2 geni	Benign
2442T>C	NC_012920.1(MT-RNR2):m. 2442T>C	RNR2 geni	Benign
3243A>G	NC_012920.1(MT-MT-TL1):m.3243A>G	MT-TL1 geni	Patojenik
5262G>A	NC_012920.1(MT-ND2):m. 5262G>A	ND2 geni	Benign
5301A>G	NC_012920.1(MT-ND2):m. 5301A>G	ND2 geni	Benign
5558A>G	NC_012920.1(MT-TRNW):m. 5558A>G	TRNW geni	Benign
5788C>T	NC_012920.1(MT-TRNC):m. 5788C>T	TRNC geni	Benign

Tablo 15 (Devam) B grubuna Özgü, Doku ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

5821G>A	NC_012920.1(MT-TRNC):m.5821G>A	TRNC geni	Benign
6253T>C	NC_012920.1(MT-COX1):m. 6253T>C	COX1 geni	VUS
6445C>T	NC_012920.1(MT-COX1):m. 6445C>T	COX1 geni	Olası Benign
712C>A	NC_012920.1(MT-RNR1):m.712C>A	RNR1 geni	Benign
7859G>A	NC_012920.1(MT-COX2):m.7859G>A	COX2 geni	VUS? Olası Patojenik?
827A>G	NC_012920.1(MT-RNR1):m.8292G>A	RNR1 geni	VUS
8292G>A	NC_012920.1(MT-COX2-TRNK):m.8292G>A	COX2 ve TRNK genleri arası	Benign
8684C>T	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8684C>T	ATP6 geni	Benign
9214A>G	NC_012920.1(MT-CO3):m.9214A>G	CO3 geni	VUS
980T>C	NC_012920.1(MT-RNR1):m.980T>C	RNR1 geni	Benign
1284T>C	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1284T>C	RNR1 geni	Benign
15927G>A	NC_012920.1(MT-TRNT):m.15927G>A	TRNT geni	Benign
2759T>C	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2759T>C	RNR2 geni	Benign
3175A>G	NC_012920.1(MT-RNR2):m.3175A>G	RNR2 geni	Benign

Tüm varyantlarlar değerlendirildiğinde Tablo 9’a göre C grubunda 56 adet varyant saptanmıştır. Toplam varyanlara göre oranı % 25.9 olmaktadır. Saptanan bu varyantlardan 38 adeti bu gruba özgü olarak dikkat çekmektedir. C grubuna özgü saptanan varyantlardan hepsi kan numunesinden elde edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 16. C grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

Varyant	Transkript ID	GENE	ACMG
1008A>G	NC_012920.1(MT-CYB):m.1008A>G	<i>RNR1 geni</i>	Benign
10143G>A	NC_012920.1(MT-ND3):m.10143G>A	<i>ND3 geni</i>	Benign
10506A>G	NC_012920.1(MT-ND4L):m.10506A>G	<i>ND4L geni</i>	Benign
11087T>C	NC_012920.1(MT-ND4):m.11087T>C	<i>ND4 geni</i>	Benign
1193T>C	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1193T>C	<i>RNR1 geni</i>	Benign

Tablo 16 (Devam). C grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

12192G>A	NC_012920.1(MT-TRNH):m.12192G>A	<i>TRNH</i> geni	Benign
1243T>C	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1243T>C	<i>RNR1</i> geni	Benign
13712G>A	NC_012920.1(MT-ND5):m.13712G>A	<i>ND5</i> geni	Benign
13768T>C	NC_012920.1(MT-ND5):m.13768T>C	<i>ND5</i> geni	Benign
13781T>C	NC_012920.1(MT-ND5):m.13781T>C	<i>ND5</i> geni	VUS
13966A>G	NC_012920.1(MT-ND5):m.13966A>G	<i>ND5</i> geni	Benign
14687A>G	NC_012920.1(MT-CYB):m.14687A>G	<i>CYB</i> geni	Benign
15203A>G	NC_012920.1(MT-CYB):m.15203A>G	<i>CYB</i> GENİ	Benign
15452C>T	NC_012920.1(MT-CYTB):m.15452C>T	<i>CYTB</i> geni	Benign
15521G>A	NC_012920.1(MT-CYB):m.15521G>A	<i>CYB</i>	VUS
15884G>C	NC_012920.1(MT-CYTB):m.15884G>C	<i>CYTB</i> geni	VUS
15922A>G	NC_012920.1(MT-TRNT):m.15922A>G	<i>TRNT</i>	Benign
2231A>G	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2231A>G	<i>RNR2</i> geni	Benign
2259C>T	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2259C>T	<i>RNR2</i> geni	Benign
2294A>G	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2294A>G	<i>RNR2</i> geni	Benign
2707A>G	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2707A>G	<i>RNR2</i> geni	Benign
2766C>A	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2766C>A	<i>RNR2</i> geni	Benign
2831G>A	NC_012920.1(MT-RNR2):m.2831G>A	<i>RNR2</i> geni	Benign
3311C>T	NC_012920.1(MT-ND1):m.3311C>T	<i>ND1</i> geni	Benign
3505A>G	NC_012920.1(MT-ND1):m.3505A>G	<i>ND1</i> geni	Benign
3746C>T	NC_012920.1(MT-ND1):m.3746C>T	<i>ND1</i> geni	VUS
4615A>G	NC_012920.1(MT-ND2):m.4615A>G	<i>ND2</i> geni	Benign
4659G>A	NC_012920.1(MT-ND2):m.4659G>A	<i>ND2</i> geni	Olası Patojenik
5046G>A	NC_012920.1(MT-ND2):m.5046G>A	<i>ND2</i> geni	Benign
5128A>G	NC_012920.1(MT-ND2):m.5128A>G	<i>ND2</i> geni	Benign

Tablo 16 (Devam). C grubuna Özgü ve Kan Numunesinde Belirlenen Varyantlar

5894-5895insCC	NC_012920.1(MT-TRYN-COX1):m.5894-5895insCC	<i>TRYN-COX1 genleri arası</i>	Benign
7521G>A	NC_012920.1(MT-TRND):m.7521G>A	<i>TRYN-COX1 genleri arası</i>	Benign
8393C>T	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8393C>T	<i>ATP8 geni</i>	Olası Benign
8536A>G	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8536A>G	<i>ATP6 geni</i>	Benign
8843T>C	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8843T>C	<i>ATP6 geni</i>	Benign
8945T>C	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8945T>C	<i>ATP6</i>	Benign
8950G>A	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8950G>A	<i>ATP6 geni</i>	Benign
9101T>C	NC_012920.1(MT-ATP6):m.9101T>C	<i>ATP6</i>	Olası Patojenik

Tüm gruplarda elde edilen numunlerden toplamda 127 adet farklı varyant saptanmıştı. Saptanan bu varyantlarda 106 adet farklı benign varyant olup, bunlardan 113 adeti kan numunesinden, 74 adeti doku numunesinden elde edilmiştir. (Bir vasyasyon numunlerde birden fazla kez görülebilmektedir.)

Elde edilen veriler ACMG veri tabanına göre varyant çeşitliliği belirlenmiştir. Buna göre varyantlar olası-benign, benign, VUS, olası-patojenik, patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Olası-benign ve benign aynı grup, olası-patojenik ve patojenik de aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir. Buna göre benign varyantların sayısal dağılımının A grubunda, VUS ve patojenik varyantların sayısal dağılımının B grubunda arttığı görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda A ve B grubundaki varyant dağılımlarının benzer olduğu bulunmuştur ($p>0.05$).

Yapılan istatistiksel analize göre sigara kullanımı, VKİ ve yaş ile varyant dağılımı arasındaki ilişkiler benzer bulunmuştur ($p<0,05$).

A ve B grubunda elde edilen doku numunelerinde yeni nesil dizileme ile yapılan inceleme sonrası benign-VUS-patojenik varyantlar değerlendirilmiştir. Tablo 9'a göre A grubundaki doku numunelerinde toplamda 43 adet varyant saptanmış olup bunlardan 41 adet benign karakterde varyant, 1 adet VUS karakterde varyant ve 1 adet patojenik karakterde varyant belirlenmiştir. B grubundaki doku numunelerinde ise

toplamda 41 adet varyant saptanmış olup bunlardan 33 adet benign karakterde varyant, 6 adet VUS karakterde varyant ve 2 adet patojenik varyant belirlenmiştir.

Çalışmamızda saptanan tüm varyantlar sıralı liste olarak Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17. Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

Varyant	Gen	Transkript ID ve varyant	ACMG	A		B		C
				Kan	Doku	Kan	Doku	Kan
10034T>C	CYB geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.10034T>C	Olası Benign	1	1	0	0	0
10044A>G	TRNG geni	NC_012920.1(MT-TRNG):m.10044A>G	Benign	0	1	0	0	0
10084T>C	ND3 geni	NC_012920.1(MT-ND3):m.10084T>C	Benign	0	0	1	1	0
1008A>G	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.1008A>G	Benign	0	0	0	0	1
10143G>A	ND3 geni	NC_012920.1(MT-ND3):m.10143G>A	Benign	0	0	0	0	1
10237T>C	ND3 geni	NC_012920.1(MT-ND3):m.10237T>C	Benign	1	1	0	0	0
10506A>G	ND4L geni	NC_012920.1(MT-ND4L):m.10506A>G	Benign	0	0	0	0	1
1053A>G	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1053A>G	Olası Benign	0	0	1	1	0
1053A>T	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1053A>G	Olası Benign	0	0	0	0	0
10750A>G	ND4L geni	NC_012920.1(MT-ND4L):m.10750A>G	Benign	0	0	1	1	0
11087T>C	ND4 geni	NC_012920.1(MT-ND4):m.11087T>C	Benign	0	0	0	0	1
1118A>G	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1118A>G	Benign	0	0	1	1	0
11447G>A	ND4 geni	NC_012920.1(MT-ND4):m.11447G>A	Benign	0	0	1	1	0
1193T>C	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1193T>C	Benign	0	0	0	0	1
12140A>G	TRNH geni	NC_012920.1(MT-TRNH):m.12140A>G	Benign	0	1	0	0	0
12172A>G	TRNH geni	NC_012920.1(MT-TRNH):m.12172A>G	Benign	2	2	0	0	0
12192G>A	TRNH geni	NC_012920.1(MT-TRNH):m.12192G>A	Benign	0	0	0	0	1
12280A>G	TRNL2 geni	NC_012920.1(MT-TRNL2):m.12280A>G	Benign	0	0	1	1	0
12346C>T	ND5 geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.12346C>T	Benign	1	1	0	0	0
1243T>C	RNR1 geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1243T>C	Benign	0	0	0	0	1
12715A>G	ND5 geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.12715A>G	Benign	1	1	0	0	0

Tablo 17 (Devam). Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

1284T>C	<i>RNR1</i> geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.1284T>C	Benign	0	0	1	1	0
13712G>A	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13712G>A	Benign	0	0	0	0	1
13759G>A	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13759G>A	Benign	0	0	1	1	0
13768T>C	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13768T>C	Benign	0	0	0	0	1
13780A>G	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13780A>G	Benign	1	2	0	0	0
13781T>C	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13781T>C	VUS	0	0	0	0	1
13879T>C	<i>ND5</i> gene	NC_012920.1(MT-ND5):m.13879T>C	Benign	1	1	0	0	0
13889G>A	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13889G>A	Benign	1	1	0	0	0
13934C>T	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13934C>T	Benign	1	1	0	0	1
13943C>T	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13943C>T	Benign	0	0	1	1	0
13966A>G	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13966A>G	Benign	0	0	0	0	1
13967C>T	<i>ND5</i> geni	NC_012920.1(MT-ND5):m.13967C>T	VUS	0	0	1	1	0
14178T>C	<i>ND6</i> geni	NC_012920.1(MT-ND6):m.14178T>C	Benign	0	0	1	1	2
14687A>G	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.14687A>G	Benign	0	0	0	0	1
14693A>G	<i>TRNE</i> geni	NC_012920.1(MT-TRNE):m.14693A>G	Modifier	0	0	1	1	1
15203A>G	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15203A>G	Benign	0	0	0	0	1
15257G>A	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15257G>A	Benign	0	1	0	0	1
15281T>C	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15281T>C	Olası Benign	0	0	1	1	0
15404T>C	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15404T>C	VUS	0	1	0	0	0
15437G>A	<i>CYB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15437G>A	VUS	0	0	1	0	0
15452C>T	<i>CYTB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYTB):m.15452C>T	Benign	0	0	0	0	1
15521G>A	<i>CYB</i>	NC_012920.1(MT-CYB):m.15521G>A	VUS	0	0	0	0	1
15534A>G	<i>CYTB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYB):m.15534A>G	Benign	0	1	0	0	0
15746A>G	<i>CYB</i>	NC_012920.1(MT-CYB):m.15746A>G	Benign	1	1	0	0	1
15884G>C	<i>CYTB</i> geni	NC_012920.1(MT-CYTB):m.15884G>C	VUS	0	0	0	0	1
15904C>T	<i>TRNT</i> geni	NC_012920.1(MT-TRNT):m.15904C>T	Benign	1	1	0	0	1
15922A>G	<i>TRNT</i> geni	NC_012920.1(MT-TRNT):m.15922A>G	Benign	0	0	0	0	2

Tablo 17 (Devam). Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

15927G>A	TRNT geni	NC_012920.1(MT- TRNT):m.15927G>A	Benign	0	0	1	2	0
15940delT	TRNT geni	NC_012920.1(MT- TRNT):m.15940delT	Benign	1	1	0	0	1
15954A>C	TRNT- TRNP genleri arası	NC_012920.1(MT- TRNT- TRNP):m.15954A>C	Benign	0	0	1	0	1
15968T>C	CYB geni	NC_012920.1(MT- CYB):m.15968T>C	Benign	1	0	0	0	0
1715C>T	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.1715C>T	Benign	1	1	0	0	0
1935A>G	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.1935A>G	Benign	1	1	0	0	0
2010T>C	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2010T>C	Benign	0	0	1	1	0
2158T>C	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2158T>C	Benign	1	1	0	0	0
2231A>G	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2231A>G	Benign	0	0	0	0	1
2232dupA	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2232dupA	Benign	1	1	0	0	0
2259C>T	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2259C>T	Benign	0	0	0	0	2
2294A>G	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2294A>G	Benign	0	0	0	0	1
2361G>A	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2361G>A	Benign	0	1	1	1	0
2387T>C	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2387T>C	Benign	0	0	1	1	1
2442T>C	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2442T>C	Benign	0	0	1	1	0
2702G>A	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2702G>A	Benign	0	1	0	0	0
2707A>G	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2707A>G	Benign	0	0	0	0	1
2758G>A	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2758G>A	Benign	0	1	0	0	0
2759T>C	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2759T>C	Benign	0	0	1	1	0
2766C>A	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2766C>A	Benign	0	0	0	0	1
2831G>A	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.2831G>A	Benign	0	0	0	0	1
3175A>G	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.3175A>G	Benign	0	0	2	2	0
3184C>T	RNR2 geni	NC_012920.1(MT- RNR2):m.3184C>T	Benign	1	1	0	0	0
3243A>G	MT- TL1 geni	NC_012920.1(MT- TL1):m.3243A>G	Patojenik	0	0	1	1	0
3311C>T	ND1 geni	NC_012920.1(MT- ND1):m.3311C>T	Benign	0	0	0	0	1

Tablo 17 (Devam). Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

3499A>C	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.3499A>C	Olası Benign	0	0	0	1	0
3505A>G	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.3505A>G	Benign	0	0	0	0	1
3736G>A	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.3736G>A	VUS? Olası Patojenik?	0	0	1	0	0
3746C>T	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.3746C>T	VUS	0	0	0	0	1
3796A>G	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.3796A>G	Benign	1	1	0	0	1
4231A>G	ND1 geni	NC_012920.1(MT-ND1):m.4231A>G	Benign	1	1	0	0	0
4378G>A	MT- TM geni	NC_012920.1(MT-TM):m.4378G>A	VUS	1	0	0	0	0
4615A>G	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.4615A>G	Benign	0	0	0	0	1
4659G>A	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.4659G>A	Olası Patojenik	0	0	0	0	1
4833A>G	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.4833A>G	Benign	1	1	0	0	1
4924G>A	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.4924G>A	Benign	0	0	1	0	0
5046G>A	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.5046G>A	Benign	0	0	0	0	1
5128A>G	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.5128A>G	Benign	0	0	0	0	1
5191C>T	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.5191C>T	Benign	1	1	0	0	0
5262G>A	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.5262G>A	Benign	0	0	1	1	0
5301A>G	ND2 geni	NC_012920.1(MT-ND2):m.5301A>G	Benign	0	0	1	1	0
5558A>G	TRNW geni	NC_012920.1(MT-TRNW):m.5558A>G	Benign	0	0	1	1	0
5788C>T	TRNC geni	NC_012920.1(MT-TRNC):m.5788C>T	Benign	0	0	1	1	0
5821G>A	TRNC geni	NC_012920.1(MT-TRNC):m.5821G>A	Benign	0	0	1	1	0
5894- 5895insC	TRYN- COX1 genleri arası	NC_012920.1(MT-TRYN-COX1):m.5894-5895insC	Benign	1	1	0	0	1
5894- 5895insCC	TRYN- COX1 genleri arası	NC_012920.1(MT-TRYN-COX1):m.5894-5895insCC	Benign	0	0	0	0	1
6253T>C	COX1 geni	NC_012920.1(MT-COX1):m.6253T>C	VUS	0	0	2	2	0
6259A>G	CO1	NC_012920.1(MT-CO1):m.6259A>G	VUS	1	0	0	0	0
6445C>T	COX1 geni	NC_012920.1(MT-COX1):m.6445C>T	Olası Benign	0	0	1	1	0

Tablo 17 (Devam). Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

6546C>T	<i>COX1</i> geni	NC_012920.1(MT-COX1):m.6546C>T	Benign	1	1	0	0	0
669T>C	<i>RNR1</i> geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.669T>C	Olası Patojenik	0	1	0	0	0
6899G>A	<i>CO1</i>	NC_012920.1(MT-CO1):m.6899G>A	Benign	0	0	1	0	0
712C>A	<i>RNR1</i> geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.712C>A	Benign	0	0	1	1	0
7521G>A	<i>TRND</i> geni	NC_012920.1(MT-TRND):m.7521G>A	Benign	0	0	0	0	1
7859G>A	<i>COX2</i> geni	NC_012920.1(MT-COX2):m.7859G>A	VUS? Olası Patojenik?	0	0	1	1	0
8271- 8279del9bp	<i>COX2- TRNK</i> genleri arası	NC_012920.1(MT-COX2- TRNK):m.8271- 8279del9bp	Benign	1	1	0	0	0
827A>G	<i>RNR1</i> geni	NC_012920.1(MT-RNR1):m.827A>G	VUS	0	0	1	1	0
8292G>A	<i>COX2</i> ve <i>TRNK</i> genleri arası	NC_012920.1(MT-COX2- TRNK):m.8292G>A	Benign	0	0	1	1	0
8348A>G	<i>TRNK</i> geni	NC_012920.1(MT-TRNK):m.8348A>G	Olası Benign	1	1	0	0	1
8373A>C	<i>ATP8</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8373A>C	Olası Benign	0	0	0	1	0
8393C>T	<i>ATP8</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8393C>T	Olası Benign	0	0	0	0	1
8472C>A	<i>ATP8</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8472C>A	VUS	0	1	0	0	0
8473C>A	<i>ATP8</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP8):m.8473C>A	Benign	1	0	0	0	0
8536A>G	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8536A>G	Benign	0	0	0	0	1
8584G>A	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8584G>A	Benign	0	1	0	0	0
8684C>T	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8684C>T	Benign	0	0	1	1	0
8773A>G	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8773A>G	Benign	1	1	0	0	0
8843T>C	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8843T>C	Benign	0	0	0	0	2
8945T>C	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8945T>C	Benign	0	0	0	0	1
8950G>A	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.8950G>A	Benign	0	0	0	0	1
9064G>A	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.9064G>A	Benign	0	0	0	1	0
9101T>C	<i>ATP6</i> geni	NC_012920.1(MT-ATP6):m.9101T>C	Olası Patojenik	0	0	0	0	1
9214A>G	<i>CO3</i> geni	NC_012920.1(MT-CO3):m.9214A>G	VUS	0	0	1	1	0

Tablo 17 (Devam). Tüm Hasta Gruplarına Ait Kan ve Doku Numunelerinde Belirlenen Varyantların Dağılımı

980T>C	RNR1 geni	NC_012920.1(MT- RNR1):m.980T>C	Benign	0	0	1	1	0
9948G>A	COX3 geni	NC_012920.1(MT- COX3):m.9948G>A	Benign	1	1	0	0	1
9966G>A	COX3 geni	NC_012920.1(MT- COX3):m.9966G>A	Benign	1	1	0	0	0
11963G>A	ND4 geni	NC_012920.1(MT- ND4):m.11963G>A	Benign	0	1	0	0	0
14316T>C	ND6 geni	NC_012920.1(MT- ND6):m.14316T>C	Benign	0	1	0	0	0
8557G>A	ATP6 geni	NC_012920.1(MT- ATP6):m.8557G>C	Benign	0	1	0	0	0

Tablo 18. Tüm Hasta Grupları Numunelerinde Belirlenen Varyantlar

Numune	Hasta No	Analiz Sonucu
Kan	A1	Varyant belirlenmedi
Kan	A2	8773A>G 7%, 12346C>T 100%
Kan	A3	4833A>G 100%, 8473C>A 100%, 15746A>G 100%
Kan	A4	3184C>T 100%, 12172A>G 100%, 12715A>G 100%
Kan	A5	1935A>G 100%
Kan	A6	3796A>G 100%, 5894-5895insC 100%, 8348A>G 100%
Kan	A7	4378G>A 7%, 13934C>T 100%
Kan	A8	Varyant belirlenmedi
Kan	A9	12172A>G 100%, 15940delT 100%
Kan	A10	6259A>G 4%, 15904C>T 100%
Kan	A11	2158T>C 100%, 4231A>G 100%, 5191C>T 100%, 13879T>C 100%
Kan	A12	1715C>T 100%, 2232dupA 100%, 15968T>C 100%
Kan	A13	13889G>A 100%
Kan	A14	6546C>T 100%, 9948G>A 100%, 10237T>C 55%, ex1 hariç
Kan	A15	Varyant belirlenmedi
Kan	A16	9966G>A 100%, 10034T>C 100%, 13780A>G 100%
Kan	A17	8271-8279del9bp 90%
Doku	A1	Varyant belirlenmedi
Doku	A2	8773A>G 4%, 12346C>T 100%
Doku	A3	669T>C 9%, 2702G>A 10%, 2758G>A 10%, 4833A>G 89%, 8472C>A 100%, 13780A>G 8%, 15746A>G 92%
Doku	A4	3184C>T 100%, 12172A>G 100%, 12715A>G 100%
Doku	A5	1935A>G 100%
Doku	A6	3796A>G 100%, 5894-5895insC 100%, 8348A>G 100%
Doku	A7	13934C>T 100%
Doku	A8	Varyant belirlenmedi
Doku	A9	12172A>G 100%, 15940delT 100%
Doku	A10	15404T>C 4%, 15904C>T 100%
Doku	A11	2158T>C 100%, 4231A>G 100%, 5191C>T 100%, 8557G>A 100%, 13879T>C 100%

Tablo 18 (Devam). Tüm Hasta Grupları Numunelerinde Belirlenen Varyantlar

Doku	A12	1715C>T 100%, 2232dupA 100%, 8584G>A 100%, 11963G>A 100%
Doku	A13	10044A>G 11%, 12140A>G 14%, 13889G>A 100%, 14316T>C 4%, 15257G>A 4%, 15534A>G 3%
Doku	A14	2361G>A 100%, 6546C>T 100%, 9948G>A 100%, 10237T>C 57%
Doku	A15	Varyant belirlenmedi
Doku	A16	9966G>A 100%, 10034T>C 100%, 13780A>G 100%
Doku	A17	8271-8279del9bp 90%
Kan	B1	980T>C 100%, 8684C>T 100%, 10084T>C 100%
Kan	B2	2759T>C 100%, 11447G>A 100%
Kan	B3	1053A>T 100% 100%, 9214A>G 100%
Kan	B4	5262G>A 100%, 15927G>A 100%
Kan	B5	3736G>A 100%, 13759G>A 100%, 13967C>T 100%, 15281T>C 14%
Kan	B6	1284T>C 100%, 5788C>T 100%, 7859G>A 100%
Kan	B7	15437G>A 5%
Kan	B8	3243A>G 6%
Kan	B9	3175A>G 100%, 6253T>C 100%
Kan	B10	Varyant belirlenmedi
Kan	B11	Varyant belirlenmedi
Kan	B12	827A>G 100%, 2442T>C 100%, 8292G>A 100%, 10750A>G 100%
Kan	B13	14178T>C 100%, 14693A>G 100%
Kan	B14	3175A>G 100%, 6253T>C 100%
Kan	B15	2361G>A 100%, 5558A>G 100%, 13943C>T 100%
Kan	B16	5301A>G 100%, 12280A>G 100%
Kan	B17	712C>A 100%, 1118A>G 100%, 5821G>A 100%, 6899G>A 100%
Kan	B18	2387T>C 100%, 4924G>A 100%, 15954A>C 4%
Kan	B19	2010T>C 100%, 6445C>T 100%
Kan	B20	Varyant belirlenmedi
Doku	B1	980T>C 100%, 8684C>T 100%, 10084T>C 100%
Doku	B2	2759T>C 100%, 9064G>A 88%, 11447G>A 88%
Doku	B3	1053A>G 100%, 9214A>G 100%, 15927G>A 100%
Doku	B4	5262G>A 100%, 15927G>A 100%
Doku	B5	13759G>A 100%, 13967C>T 100%, 15281T>C 18%
Doku	B6	1284T>C 100%, 5788C>T 100%, 7859G>A 100%
Doku	B7	Varyant belirlenmedi
Doku	B8	3243A>G 9%
Doku	B9	3175A>G 100%, 6253T>C 100%, 8373A>C 6%
Doku	B10	3499A>C 4%
Doku	B11	Varyant belirlenmedi
Doku	B12	827A>G 100%, 2442T>C 100%, 8292G>A 100%, 10750A>G 100%
Doku	B13	14178T>C 100%, 14693A>G 100%
Doku	B14	3175A>G 100%, 6253T>C 100%
Doku	B15	2361G>A 100%, 5558A>G 100%, 13943C>T 100%
Doku	B16	5301A>G 100%, 12280A>G 100%
Doku	B17	712C>A 100%, 1118A>G 100%, 5821G>A 100%

Tablo 18 (Devam). Tüm Hasta Grupları Numunelerinde Belirlenen Varyantlar

Doku	B18	2387T>C 100%
Doku	B19	2010T>C 100%, 6445C>T 100%
Doku	B20	Varyant belirlenmedi
Kan	C1	Varyant belirlenmedi
Kan	C2	13712G>A 100%
Kan	C3	Varyant belirlenmedi
Kan	C4	15203A>G 100%
Kan	C5	8393C>T 100%, 9948G>A 100%, 13966A>G 100%, 15927G>A 100%
Kan	C6	1193T>C 100%, 2294A>G 100%, 2766C>A 100%, 3746C>T 100%, 8945T>C 100%, 10143G>A 100%, 10506A>G 100%, 13934C>T 100%
Kan	C7	Varyant belirlenmedi
Kan	C8	2259C>T 100%, 11087T>C 100%
Kan	C9	4659G>A 100%, 14687A>G 100%
Kan	C10	14178T>C 100%, 14693A>G 100%
Kan	C11	3796A>G 100%, 5894-5895insC 100%, 8348A>G 100%, 15922A>G 3%
Kan	C12	12192G>A 100%, 15521G>A 6%
Kan	C13	3311C>T 100%, 4615A>G 100%, 5894-5895insCC 100%, 8843T>C 100%, 13768T>C 100%, 15257G>A 12%
Kan	C14	2387T>C 100%, 15954A>C 100%
Kan	C15	2231A>G 100%, 2831G>A 100%
Kan	C16	1243T>C 100%, 3505A>G 71%, 5046G>A 100%, 5128A>G 100%, 15884G>C 100%
Kan	C17	2707A>G 100%, 8950G>A 100%, 9101T>C 3%, 14178T>C 100%, 15940delT 100%
Kan	C18	7521G>A 100%, 15452C>T 100%
Kan	C19	Varyant belirlenmedi
Kan	C20	4833A>G 100%, 13781T>C 4%, 15746A>G 100%
Kan	C21	15904C>T 100%
Kan	C22	1008A>G 100%, 2259C>T 100%, 8536A>G 100%, 8843T>C 100%

5. TARTIŞMA

Hareket sisteminin temel yapıtaşları arasında yer alan menisküsler yük iletimi, şok Emilimi, stabilite, beslenme, eklem lubrikasyonu ve propriyosepsiyonu gibi önemli görevlerde rol almaktadır. Ek olarak dizde eklem uyumunu ve temas alanını arttırarak temas streslerinin azalmasını sağlar (1). Bu özellikleri ile menisküsler kas iskelet sistemi ve özellikle hareket komponentinin temel unsuru olmuştur.

Bilindiği üzere menisküs yırtıkları etiyojisine göre travmatik ve dejeneratif olarak sınıflandırılır. Travmatik yırtıklar, sıklıkla gençlerde ve spor sırasında normal diz ve menisküse aşırı kuvvet uygulanması ile oluşan akut yırtıklardır ve semptomların başlangıcı tipik olarak travmatik olayla ilişkili olmaktadır. Dejeneratif menisküs yırtığı ise yavaş gelişen lezyondur, travma öyküsü yoktur veya minimal travma ile meydana gelir. Patogenezi tam anlaşılmamıştır ancak genellikle 45 yaş üzerindeki kişilerde, menisküs yapısının esnekliğinin azaldığı, dejeneratif değişikliklerin başladığı menisküs dokusunda meydana gelir (2). Dejeneratif menisküs yırtıklarının tıpkı diğer organ sistemlerinde olduğu gibi yaşlanma sonucu olabileceği çeşitli araştırmalara konu olmuştur.

Mitokondri oksidatif fosforilasyon ile ATP üretiminin yanı sıra üstlendiği görevler ile hücre canlılığının sürdürülebilmesinde merkezi öneme sahiptir. Organelin hücre canlılığına katkıda bulunmasında rol oynayan en temel özelliklerinden biri de kendine özgül genetik sistemidir. MtDNA kalıtımı genellikle sitoplazmik bir kalıtım olup bu kalıtım maternal olarak yavrulara aktarılmaktadır. Mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresin yaşlanmada önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda mitokondrinin yaşlanma üzerinde kritik bir rol oynadığını gösteren teoriler artmıştır. Bu teorilerden biri olan oksidatif stres teorisinin ana prensibi, moleküler oksidatif hasarın geri dönüşümsüz ve ilerleyen artışından dolayı ortaya çıkan fonksiyonel kayıptır (5). Yaşla birlikte oksidatif stres miktarındaki artış; serbest radikal oluşum miktarındaki artış, antioksidatif savunmalardaki azalma ve zarara uğramış moleküllerin uzaklaştırılması veya tamirindeki azalmalara bağlıdır (6). Yaşlanmanın mitokondriyal teorisi ise serbest radikal hasarının mtDNA’da birikimi sonucu mitokondrilerin etkinliğinin düşmesi, hücre ölümü ve sonuçta yaşlanmaya yol açmasıyla ilgilidir (7). Mitokondri fonksiyonundaki bozulmalar; total mitokondri volümünün azalması, oksidasyon kapasitesinde azalma, lipid ve

proteinlerin oksidatif hasarı ile sonuçlanır. Oluşan biyokimyasal ve biyoenerjik değişimler, hücre dinamiklerinde bozulma ve mitokondrinin düzenlediği apoptoziste artışa neden olur. Bu değişimlerin, iskelet kası kalitesindeki bozulmanın yanı sıra ektopik lipid infiltrasyonu, sistemik inflamasyon ve insülin direnci gibi yaşlanmaya bağlı diğer patolojilerin altta yatan nedeni olabileceği düşünülmektedir. Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı ve Amyotrofik lateral skleroz gibi geç baslangıçlı nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde de mitokondriyal disfonksiyonun rolü incelenmektedir (121). MtDNA mutasyona uğramış farelerden elde edilen deneysel sonuçlar, somatik kök hücrelerdeki mtDNA mutasyonlarının oksidatif stresi artırmadan progeroid fenotipleri tetikleyebileceğini ve dolayısıyla biyoenerjetik eksikliğe yol açan mtDNA mutasyonlarının yaşlanma sürecini yönlendirebileceğini göstermektedir (8). 2005 yılında yapılan bir çalışmada mitokondriyal matrikse antioksidan bir enzim olan katalaz eklenerek somatik mtDNA mutasyon oranı azaltılmış, bunun sonucunda farelerin yaşam sürelerinin arttığı gözlenmiştir (9).

Yaptığımız literatür taramasında travmatik olmayan menisküs yaralanmalarında mtDNA analizi yapılan bir çalışma bulunmamıştır. Fakat yine diz eklemine dejenerasyona neden olan hastalıklardan birisi olan osteoartritin yaşlanma ile ilişkisini konu alan bir derlemede bu hastaların etiyopatogenezinde artmış reaktif oksijen radikallerinin üretimi ile birlikte mitokondriyal disfonksiyonun önemli olabileceği öne sürülmüştür (10). Ayrıca yapılan çalışmalarda osteoartrit vakalarında farklı mtDNA haplogrupları arasındaki korelasyonunda anlamlı farklılıklar saptanmıştır (11). Daha önce dejenere menisküs mtDNA mutasyon yükünün araştırıldığı bir çalışma bulunmamıştır. Fakat 2019 yılında yapılan bir çalışmada yaşa bağlı duyma kaybında artmış mitokondriyal mutasyon yükü saptanmıştır (122). Aynı zamanda yaşlanma ile ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıklardan biri olan Alzheimer Hastalığında da yine artmış mtDNA mutasyon yükü olduğu saptanmıştır (123).

Dejeneratif menisküs yırtığında; orta-ileri yaş, artmış VKİ, diz üstü yüklenme ile zorlayıcı yapılan işler (temizlik ve döşeme işi gibi meslekler) görülme sıklığını artıran etmenler olarak gösterilmektedir. Varus dizilim bozukluğu da bu faktörlere eklenebilir (124). Diz ağrısı sonrası dejeneratif menisküs yırtığı düşünülen hastalarda anamnez daha da detaylandırıldığında dizi zorlayıcı aktiviteler veya tekrarlayıcı

mikrotravmanın var olduğu hasta olguların %75'inde bulunduğu saptanmıştır (125). Dejeneratif menisküs yırtığı, dizde osteoartrit ile birlikte sık görülmektedir. Tek taraflı diz ağrısı ile başvuran 45 yaş üzerinde 174 osteoartritli hastada yapılan bir çalışmada, semptomatik menisküs yırtığı MRG'de %24 oranında bulunmuştur (126). Buna karşın, radyolojik olarak osteoartrit bulgusu olmayan hastalarda da dejeneratif menisküs yırtığı görülebilmektedir (127). Popülasyon geneli mediyal menisküs kırık hasarından bağımsız olarak daha sık etkilenir. Dejeneratif menisküs lezyonu toplumda oldukça sık olarak görülmektedir. Günümüz yaşantısında yorucu tempo ile aktif çalışan bireylerin daha da artmasıyla ve yaşlanan nüfusun artmasıyla birlikte dejeneratif menisküs lezyonlarının sıklığı artmaktadır. Dejeneratif menisküs lezyonlarının görülme sıklığı 30 yaş altındaki kişilerde %5 iken, 30–45 yaş arasında %13–15'e, 50–59 yaş arasında %16–30'a ve 70 yaş üzerinde %50'nin üzerine çıkmaktadır (128). MRG'de saptanan menisküs lezyonlarının semptomlara neden olması gerekmez. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, hastaların %60'ından fazlasında diz ağrısı şikayetinin olmadığı bildirilmiştir (126). Toplum geneli MRG çalışmaları, diz ağrısı olmayan ve direkt grafilerinde osteoartrit bulguları olmayan orta yaş ve üzerindeki kişilerde menisküs yırtığı sıklığının yüksek olduğunu ve klinik olarak önemli olmadığını göstermiştir (129).

Dejeneratif menisküs yırtıkları osteoartrit sürecinin bir parçası olarak kabul edilebilir. Osteoartrit ve dejeneratif menisküs yırtıkları, aynı risk faktörlerini ve biyolojik sürecin çoğunu paylaşır. Bu nedenle, bir durumun diğerinden önce meydana gelip gelmediğini belirlemek veya her ikisinin birbirinden bağımsız ve/veya eş zamanlı meydana geldiğini söylemek zordur (130).

Artroskopik cerrahinin yaygın kullanılmaya başlandığı ilk dönemlerde dejeneratif menisküs yırtıklarına parsiyel menisektomi tedavisi sıklıkla uygulanmaktaydı. İlk dönemlerde sonuçların iyi olduğu belirtilse de uzun süreli takipler sonrası parsiyel menisektominin başarısı ve geçerliliği tartışılır hale geldi (131). Günümüzde menisküslerdeki dejeneratif yırtıkların, gonartrozun doğal sürecinin bir parçası olduğu ve semptomatik olmayanların azımsanmayacak çoğunlukta olduğu görüşü egemen olmaya başlamıştır. Dejeneratif menisküs yırtıklarının artroz bulguları olmayan dizlerde de eksize edilmesi de günümüz tartışmalarından biri haline gelmiştir. Yapılan randomize prospektif bir çalışmada,

travmatik olmayan dejenere medial mensiküs yırtıklarının tedavisinde parsiyel menisektominin etkinliği araştırılmıştır. Bir gruba parsiyel menisektomi ve sonrasında standart rehabilitasyon uygulanırken diğer gruba sadece konservatif tedavi uygulanmış. Sonuçta ise parsiyel menisektominin sadece konservatif tedavi uygulanan hastalara iyilik ve artroz ilerleme oranına göre bir üstünlük sağlamadığı görülmüş (132).

Yaptığımız çalışmada, dejenratif ve travmatik yırtık sonrası onarılamayacak düzeyde olan meniskal dokulardan ve periferik kandan mitokondriyal dizileme analizi yaptık. Kontrol grubu olarak izole ÖÇB rüptürü olan hastaların periferik kanlarından aynı şekilde mitokondriyal dizileme analizi yaptık. Elde ettiğimiz sonuçlara bakacak olursak; A ve B grubu karşılaştırıldığında benign varyantlar en sık A grubunda görülmüştür. Sayısal olarak fazla olmasına rağmen her iki grup arasında benign varyant dağılımı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Dolayısıyla benign olarak gruplandırılan varyantların, mitokondriyal yaşlanmayı geciktirme etkisi olup olmadığı tartışmaya açıktır. Bununla ilgili literatürde herhangi veri bulunamamıştır.

Elde edilen verilere göre benign varyantların sayısal dağılımının A grubunda, VUS ve patojenik varyantların sayısal dağılımının B grubunda arttığı görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda A ve B grubundaki varyant dağılımlarının benzer olduğu bulunmuştur ($p>0.05$). Örneklem sayılarının artırılması ile A ve B grubunda toplam VUS ($p=0,087$) ve doku numunelerinden elde edilen VUS ($p=0,066$) varyant dağılımı istatistiksel olarak anlamlı çıkabileceği öngörülmektedir. Her ne kadar varyant dağılımlarının gruplar arasında benzer olduğu bulunsu da benign harici varyantların sayısal olarak dejeneratif menisküs yırtığı olan B grubunda daha fazla görülmesi dejeneratif menisküs yırtığı predispozan faktörleri arasında mitokondriyal etmenlerin de rol alabileceğini düşündürmektedir.

Tüm çalışma gruplarında VKİ 27.21 kg/m^2 olarak saptanmış olup A grubunda 27.83 , B grubunda 28.58 , C grubunda 25.49 olarak bulunmuştur. Hastalar detaylı incelendiğinde VKİ ile korele varyantların olmadığı görülmektedir. VKİ düşük olan hastalarda bile benign varyant saptanmıştır.

Tüm çalışma gruplarında ortalama yaş $34,9$ olarak saptanmış olup A grubunda 37.0 , B grubunda 39.3 , C grubunda 29.2 olarak bulunmuştur. Veriler analiz

edildiğinde dejeneratif menisküs dokularından elde edilen genom dizilimin yaşıla ilişkisi saptanmamıştır. Artan yaşla birlikte beklenen olası yırtık ihtimalinin mtDNA varyantları ile korele olmadığı görülmüştür.

Tüm çalışma gruplarında sigara kullanımına bakılacak olursak; A grubunda 4 kişi, B grubunda 4 kişi ve C grubunda 9 kişi sigara kullanmaktadır. Bu 3 grup arasında kan numunelerinde görülen varyantların dağılımı ile sigara kullanımı benzer dağılım göstermektedir ($p>0,05$).

Genç yaşta dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalarda predispozan faktörler arasında mtDNA varyantları ve buna bağlı olabilecek bir histolojik erken yaşlanma hipotezinin araştırıldığı çalışmamızda, dejeneratif menisküs yırtığı olan grupta anlamlı olarak mtDNA varyantları belirlendi. Bu bağlamda ileri düzey araştırmalar ile genç yaşta dejeneratif menisküs yırtığına yatkınlığı olabilecek hastalar tespit edilip, dejenerasyon oluşmadan medikal müdahale ile cerrahi tedavi gereksimi azaltılabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Menisküs dokusunun önemi anlaşıldıkça, tıbbın her alanında olduğu gibi koruyucu hekimlik, medikal ve cerrahi tedavi seçeneklerinde gelişmeler devam etmektedir. Dejeneratif menisküs yırtığı etyopatogenezi tam anlaşılamamakta birlikte, yavaş gelişen, menisküs yapısının esnekliğinin azaldığı, dejeneratif değişikliklerin başladığı süregelen bir süreçtir. Yapılan çalışmalarda osteoartrit vakalarında farklı mtDNA haplogrupları arasındaki korelasyonunda anlamlı farklılıklar saptanmıştır (11)(11). Daha önce dejenere menisküs mtDNA mutasyon yükünün araştırıldığı bir çalışma bulunmamıştır. Yaşlanma ve dejeneratif hastalıklarda mtDNA varyantlarının etkili olabileceği bilinmektedir.

Yaptığımız bu çalışmada, dejeneratif menisküs yırtığı etyolojisinde, mtDNA varyantlarının etkisini araştırdık. 3 grup arasında, yaş, vücut-kitle indeksi, sigara kullanımı ve varyant dağılımı benzer bulunmuştur. Travmatik menisküse sahip hasta grubunda benign varyantların, dejeneratif menisküse sahip hasta grubunda ise VUS ve patojen varvariantların fazla olduğu sayısal olarak dikkat çekmektedir. İstatiksel olarak gruplar arası varyant dağılımı benzer çıksa da, örneklem sayıları artırılarak, mtDNA varyantları ile dejenerasyon arasında anlamlı bir sonuç elde edilebilir. Burada önemli noktalardan biri menisküsde dejenerasyona sebep olabilecek birçok etyoloji bulunmaktadır. Dolayısıyla hastaların bir kısmında başka nedenlerden ötürü dejenerasyon olabilir. Ancak bir kısmındada mtDNA varyantlarının etkili olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca toplumda sık görülen olaylarda bizim benign zannettiğimiz değişiklikler hastalık nedeni olabilir. Bizim anladığımız anlamda ki mitokondriyal hastalıklara neden olmasalarda, bu tür dejeneratif patolojilere neden oluyor olabilir. Daha sonra bu konuyla ilgili çalışmalar artar ve bu ilişki kurulabilirse, hastalara klinik ortaya çıkmadan önceki dönemde, aile taramalarıyla başlayan profilaktik tedavi başlanabilir, hayat tarzı değişiklikleri gibi erken müdahalelerle yaşam kaliteleri artırılabilir ve cerrahiye ihtiyaç olmadan tedavi edilmeleri sağlanabilir. Ayrıca ileri dönemde genetik tedavi seçeneklerinin araştırılmasına katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bulunan varyantların, dejeneratif menisküs yırtıklarının etiyolojisini aydınlatmak adına, ileride bu konu hakkında daha geniş örneklem grupları oluşturularak yapılacak çalışmalara yol göstermesini umuyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Fox AJS, Wanivenhaus F, Burge AJ, Warren RF RSA. The Human Meniscus: A Review of Anatomy, Function, Injury, and Advances in Treatment. Clin Anat. 2015;28(2):269-87.
2. Noble J HDL. The pathology of the degenerate meniscus lesion. J Bone Joint Surg Br. 1975;57(B(2)):180-6.
3. Ernster, L., & Schatz G. Mitochondria: a historical review. The Journal of Cell Biology,. 1981;91(3):227-255.
4. Öztaş, S., & Yakan B. DNA Ve Hastalıkları Mitochondrial DNA and related diseases. Derlemeler (Review Articles). 1999;21(4):63-71.
5. Sohal, R. S., & Orr, W. C., Esser K MGM. Molecular aspects of aging. New York: Wiley,. 1995;109-127.
6. Sohal, R. S., & Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science (New York, NY),. 1996;273(5271):59-63.
7. Park, C. B., & Larsson NG. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. Journal of Cell Biology,. 2011;193(5):809-818.
8. Csiszar, A., Labinskyy, N., Perez, V., Recchia, F. A., Podlutzky, A., Mukhopadhyay, P., Bartke A. Endothelial function and vascular oxidative stress in long-lived GH/IGF-deficient Ames dwarf mice. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,. 2008;295(5):1882-1894.
9. Schriener, S. E., Linford, N. J., Martin, G. M., Treuting, P., Ogburn, C. E., Emond, M., ... Rabinovitch PS. Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. Science (New York, NY),. 2005;5730(308):1909–11.
10. Damm P, Bender A, Bergmann G. Postoperative changes in in vivo measured friction in total hip joint prosthesis during walking. PLoS ONE. 2015;10(3):1–15.
11. Rego-Pérez, I., Durán-Sotuela, A., Ramos-Louro, P., & Blanco FJ. Mitochondrial Genetics and Epigenetics in Osteoarthritis. Frontiers in Genetics,. 2020;10(1):1-9.
12. Kim MJ, Haroon S, Chen G Di, Ding D, Wanagat J, Liu L, et al. Increased burden of mitochondrial DNA deletions and point mutations in early-onset age-related hearing loss in mitochondrial mutator mice. Experimental Gerontology. 2019;125(July):110675.
13. Lin MT, Simon DK, Ahn CH, Kim LM, Flint Beal M. High aggregate burden of somatic mtDNA point mutations in aging and Alzheimer's disease brain. Human Molecular Genetics. 2002;11(2):133–45.
14. AGJJ. The diagnosis of meniscus injuries: Some new clinical methods. APLEY. 1947;29:78–84.
15. TJBmj. A. An operation for displaced semilunar cartilage. 1885;779.
16. TJBmj. A. Excision of the internal semilunar cartilage, resulting in perfect restoration of the joint-movements. 1889;1:291.

17. Knee joint changes after meniscectomy. 1948;30:664-70. In: Fairbank TJTJob. 1948. p. 664–70.
18. HJATJoA I. The early days of arthroscopic surgery in Japan. Surgery R. 1988;4:222–5.
19. Sivananthan S, Sherry E, Warnke P MM. CRC Press; In: Mercer's Textbook of Orthopaedics and Trauma Tenth edition. 2012.
20. Editors. TOH. Bizim Öykümüz. Türk Spor Yaralanmaları ve Artroskopi Derneği Yayınları. 2008;
21. Binnet MS, Demirörs H BSJAOTT. Menisküs tamiri ve fiksasyon yöntemleri. 1994;28:286–91.
22. Pınar H, Uğur H, Yavuz K, Haydar T ME. Menisküs. İstanbul Tıp Kitabevi. 2016.
23. E. T. Klinik radyoloji. Bursa: Nobel Kitabevi. 2008. 106–789 p.
24. Fox AJ, Bedi A RSA. The basic science of human knee menisci: structure, composition, and function. Sports Health. 2012;4(4):340-51.
25. Sanchez-Adams J AKA. The knee meniscus: a complex tissue of diverse cells. Cell Mol Bioeng. 2009;2:332-40.
26. J. M. The knee. MRI of the musculoskeletal system: a teaching file. New York: Raven Press. 1990;251-385.
27. H. P. Menisküs: anatomi ve propriosepsiyon. Acta Orthop Traumatol Turc. 1997;31:392-396.
28. Kusayama T, Harner CD, Carlin GJ, Xerogeanes JW SBA. Anatomical and biomechanical characteristics of human meniscomfemoral ligaments. Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc. 1994;2(4):234-7.
29. Goldblatt JP RJC. Anatomy and biomechanics of the knee. Oper Tech Sports Med. 2003;11(3):172-86.
30. Freeman, M. A., & Wyke BARRY. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. Journal of Anatomy. 1967;101(3):505.
31. Jerosch, J., Prymka, M., & Castro WH. Proprioception of knee joints with a lesion of the medial meniscus. Acta Orthop Belg,. 1996;62(1):41–5.
32. Kennedy, J.C., Alexander, I.J. and Hayes KC. Nerve supply of the human knee and its functional importance. The American Journal of Sports Medicine,. 1982;10(6):329-336.
33. Zimny, M., Albright, D. and Dabezies E. Mechanoreceptors in the human medial meniscus. Cells Tissues Organs,. 1988;133(1):35-40.
34. Kawamura, S., Lotito, K. and Rodeo SA. Biomechanics and healing response of the meniscus. Operative Techniques in Sports Medicine. 2003;11(2):68-76.
35. FOX, A.J.S., BEDİ A. The Basic Science of Human Knee Menisci: Structure, Composition, and Function. Rodeo Sports Health. 2012;4(4):340-351.
36. Musumeci G. The role of aquaporin 1 in knee osteoarthritis: a contemporary review. OA Arthritis Feb. 2013;2(1):2.

37. Dalcık H Yıldırım. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Nobel tıp kitabevi, İstanbul. 2009. 368 p.
38. Clarc, C.R., Ogden JA. Development of the menisci of the human knee joint. J Bone Joint Surg; 1983;65(A):538-547.
39. Rodeo SA KS. Form and function of the meniscus. In:Einhorn TA, O’Keefe RJ, Buckwalter JA eds. In: Orthopedic Basic Science 3rd ed Rosemont, IL, USA: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 175-89.
40. Makris EA, Hadidi P AKA. The knee meniscus: structurefunction,function, pathophysiology, current repair techniques, andprospects for regeneration. Biomaterials. 2011;32(30):7411-31.
41. Tarihçe. Türkiye Spor Yaralanmaları Artroskopisi ve Diz Cerrahisi Derneği (TUSYAD). 2015;1.
42. Clark CR OJA. Development of the menisci of the human knee joint. Morphological changes and their potential role in childhood meniscal injury. J Bone Joint Surg Am. 1983;65(4):538-547.
43. Cameron H U MI. The structure of the meniscus of the human knee joint. Clin Orthop. 1972;89:215-19.
44. Ferrer-Roca O VC. Lesions of the meniscus. Part I: Macroscopic and histologic findings. Clin Orthop. 1980;146:289-300.
45. Gray JC. TSP. Neural and vascular anatomy of the menisci of the human knee. 1999;29:23-30.
46. Petersen W TB. Age-related blood and lymph supply of the knee menisci:a cadaver study. Acta Orthop. 1995;66(4):308-12.
47. DeHaven KE ASP. Meniscal repair Part I: basic science, indications for repair, and open repair. J Bone Joint Surg Am. 1994;76:140-52.
48. Assimakopoulos AP, Katonis PG, Agapitos MY EEL. The innervation of the human meniscus. Clin Orthop. 1992;275:232-236.
49. Aydın AT. Diz eklemi anatomisi. In Bölüm 2: In: Diz cerrahisi Tandogan NR, Alpaslan AM (ed): Ankara. 1999. p. 5-18.
50. B. K. Six Year Follow-Up after Arthroscopic Menisectomy. Advances in Environmental Biology. 2015;9(2):50-53.
51. Shrive NG, O’Connor JJ GJW. Load-bearing in the knee joint. Clin Orthop Relat Res. 1978;131:279-87.
52. Walker PS EMJ. The role of the menisci in force transmission across the knee. Clinical orthopaedics and related research. 1975;109:184-92.
53. Indelli PF, Szivek JA, Schnepf AS GAW. Load Bearing at the Meniscomfemoral Joint. The Duke Orthopaedic Journal. 2011;1(1):39–43.
54. Fithian DC, Kelly MA MV. Material properties and structure-function relationships in the menisci. Clin Orthop. 1990;252:19-31.
55. Aagaard H VR. Function of the normal meniscus and consequences of meniscal resection. Scand J Med Sci Sports. 2007;9(3):134-40.

56. Baratz ME, Fu FH MR. Meniscal tears: The effect of meniscectomy and of repair on intraarticular contact areas and stress in the human knee. A preliminary report. *Am J Sports Med.* 1986;14(4):270-75.
57. Kalaycı A SYTI. Diz Biyomekanik ve Sağaltımın Biyomekanik İlkeleri. Editörler: Akcalı ID, Gülsen M, Un K; Kas Iskelet Sistemi Biyomekanik Kitabı. 2.cilt. Adana; 2009. 985-1048. p.
58. Tüzün F EMAU. Hareket Sistemi Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri,. 1997.
59. Allen CR, Wong EK, Livesay GA, Sakane M, Fu FH WSL. Importance of the medial meniscus in the anterior cruciate ligament –deficient knee,. *J Orthop Res.* 2000;18:109-115.
60. Boyd KT MPT. Meniscus preservation; rationale, repair techniques and results. *Knee.* 2003;10:1-11.
61. Fox AJ, Wanivenhaus F, Burge AJ, Warren RF RSAJCA. The human meniscus: a review of anatomy, function, injury, and advances in treatment. 2015;28:269-87.
62. I. M. Meniscal tears, repairs and replacement: their relevance to osteoarthritis of the knee. *British journal of sports medicine.* 2011;45(4):292-7.
63. Drosos GI PJJL. The causes and mechanisms of meniscal injuries in the sporting and non-sporting environment in an unselected population. *The Knee.* 2004;11:143-9.
64. Fox, A.J.S., Bedi A. The Basic Science of Human Knee Menisci: Structure, Composition, and Function. *Rodeo Sports Health.* 2012;4(4):340-351.
65. Sweigart MA AK. Toward tissue engineering of the knee meniscus. 2001;7:111-29.
66. Rai, M.F., Patra, D., Sandell, L.J. Brophy RH. Transcriptome Analysis of Injured Human Meniscus Reveals a Distinct Phenotype of Meniscus Degeneration With Aging. *Arthritis & rheumatism.* 2013;65(8):2090-2101.
67. OZAN H. Anatomi. 3.baskı, Klinisyen Tıp itabevleri, İstanbul. 2014.
68. Dere F. Anatomi. 3. Baskı, Okullar pazarı kitabevi, Adana. 1994.
69. R. O. Meniscal lesions and their treatment. In: O'Connor's textbook of arthroscopic surgery Philadelphia. 1984. p. 124.
70. R. E. Menisküs yırtıklarının sınıflandırılması ve artroskopik menisküs rezeksiyonunun prensipleri. *Acta Orthop Trau Turc.* 1997;31:410-20.
71. ST. C. Campbell's Operative Orthopaedics. In: Canale & Beaty TH, editor. 11 ed. new york: Elsevier; 1989. 2396-435. p.
72. Ford, G.M., Hegmann, K. T., White, G. L., & Holmes EB. Associations of body mass index with meniscal tears. *American Journal of Preventive Medicine.* 2005;28(4):364-368.
73. Rytter, S., Jensen, L. K., Bonde, J. P., Jurik, A. G., & Egund N. Occupational kneeling and meniscal tears: a magnetic resonance imaging study in floor layers. *The Journal of Rheumatology.* 2009;36(7):1512-1519.

74. Snoeker, B. A., Bakker, E. W., Kegel, C. A. and Lucas C. Risk factors for meniscal tears: a systematic review including meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2013;43(6):352-367.
75. Blagojevic, M., Jinks, C., Jeffery, A. and Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;18(1):24-33.
76. Brindle T, Nyland J JDL. The Meniscus: Review of Basic Principles With Application to Surgery and Rehabilitation. *J Athl Train.* 2001;36(2):160-169.
77. Weiss WM JD. Update on meniscus debridement and resection. *J Knee Surg.* 2014;27(6):413-22.
78. Evans PJ, Bell GD FC. Prospective evaluation of the McMurray test. *Am J Sports Med.* 1993;21:604-8.
79. Akseki D, Ozcan O, Boya H PH. A new weight-bearing meniscal test and a comparison with McMurray's test and joint line tenderness. *Arthroscopy.* 2004;20(9):951-8.
80. Fowler PJ LJA. The predictive value of five clinical signs in the evaluation of meniscal pathology. *Arthroscopy .* 1989;5:184-6.
81. Messieh SS, Fowler PJ MT. Anteroposterior radiographs of the osteoarthritic knee. *J Bone Joint Surg Br.* 1990;72(4):639-40.
82. GŞ. A. Diz Ekleminde Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri. In: Ege R, ed. In: *Diz Sorunları 2*Baskı Ankara: Bizim Büro Basımevi; 1998. p. 139-81.
83. EÜ. E. Menisküs görüntüleme yöntemleri. *Acta Orthop Trau Turc.* 1997;31:402-09.
84. Anupama S Patil AHChandorkar. Imaging of meniscus repair and healing : a review of current trends. 2016;23-27.
85. Pujol N, Panarella L, Selmi TA, Neyret P, Fithian D BP. Meniscal healing after meniscal repair: a CT arthrography assessment. *Am J Sports Med;* 2008;36(8):1489-95.
86. Gray SD KAP. Imaging of the Knee. *Orthop Clin North Am.* 1997;28:643-58.
87. İğci E, Balcı P OO. Normal diz ekleminin ultrasonografik incelemesi (US-MR karşılaştırmalı çalışma). *Radyoloji ve Tıbbi görüntüleme dergisi.* 1992;219:375-380.
88. M. E. Menisküs lezyonlarının tanısında CT ve artro-CT'nin yeri. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 1992;26:331-333.
89. Crues JV, 3rd, Mink J, Levy TL, Lotysch M SDW. Meniscal tears of the knee: accuracy of MR imaging. *Radiology.* 1987;164:445-8.
90. Oei, E.H. et al. MR imaging of the menisci and cruciate ligaments: a systematic review. *Radiology.* 2003;226(3):837-48.
91. Heybeli N ME. Menisküs Lezyonları; Güncel Yaklaşım. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 1999;6(3):5-9.
92. Weiss CV, Lundberg M, Hamberg P, DeHaven KE GJ. Non-operative treatment of meniscal tears. *J Bone Joint Surg Am.* 1989;71(6):811-822.

93. Lanzer WL KG. Changes in articular cartilage after meniscectomy. Clin Orthop. 1990;41:252.
94. Hare KB, Lohmander LS, Christensen R REM. Arthroscopic partial meniscectomy in middle-aged patients with mild or no knee osteoarthritis: a protocol for a double-blind, randomized sham-controlled multi-centre trial. BMC Musculoskelet Disord. 2013;25(14):71.
95. Katz JN, Meredith DS, Lang P, Creel AH, Yoshioka H, Neumann G, Fossel AH de PP, E. L. Associations among preoperative MRI features and functional status following arthroscopic partial meniscectomy. Osteoarthritis Cartilage. 2006;14(5):418-22.
96. Shahriaree H. O'Connor's textbook of arthroscopic surgery, Philadelphia, JB Lippincott. 1984.
97. SA. R. Meniscal allografts –where do we stand? Am J Sports Med. 2001;29(2):246-61.
98. Spencer SJ, Saithna A, Carmont MR, Dhillon MS, Thompson P ST. Meniscal scaffolds: early experience and review of the literature. Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc. 2012;19(6):760-5.
99. McDermott ID AAA. The consequences of meniscectomy. J Bone Joint Surg Br. 2006;88(12):1549-56.
100. Venkatachalam S, Godsiff SP HML. Review of the clinical results of arthroscopic meniscal repair. Knee. 2001;8(2):129-33.
101. Kramer P OBP. Mitochondria and our mind. Perspect Psychol Sci. 2018;13:88-100.
102. HV. S. Mitochondrial disease. Lancet,. 2006;368(9529):70-82.
103. Alberts B, Johnson A LJ. Molecular Biology of the Cell 5th Edition. Garland Science; 2007.
104. Annesley SJ FPR. Mitochondria in health and disease. Cells. 2019;8:680.
105. Cloonan SM CAM. Mitochondria in lung disease. J Clin Invest. 2016;126:809-820.
106. Karataş M. TM. Mitokondriyal Epigenetik ve Kanser. Cerrahpaşa Med J. 2021;45(2):64-79.
107. Desalle R, Schierwater B HH. MtDNA: the small workhorse of evolutionary studies. Front Biosci (Landmark Ed). 2017;22:873-887.
108. Carelli V LMC. Clinical syndromes associated with mtDNA mutations: where we stand after 30 years. Essays Biochem. 2018;62:235-254.
109. El-Hattab A. W., Craigen W. J. SF. Mitochondrial DNA maintenance defects. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2017;1863:1539-1555.
110. M, Pfeiffer A, Wanrooij H.P WS. Chapter 1. mtDNA replication, maintenance, and nucleoid organization. In: Gasparre G., Porcelli AM., eds., The Human Mitochondrial Genome. In: Cambridge; Academic Press; 2020. p. 3-33.
111. Hahn A ZS. Mitochondrial genome (mtDNA) mutations that generate reactive oxygen species. Antioxidants (Basel). 2019;8:392.

112. RD. J. Mitochondrial DNA and disease. *New Engl J Med*. 1995;333:638-644.
113. LA. Z. Mechanisms of mitochondrial DNA repair in mammals. *Biochemistry (Mosc)*. 2018;83:233-249.
114. Miquel J, Economos C, Fleming J JJE. Mitochondrial role in cell ageing. *Exp Gerontol*. 1980;15:575-591.
115. DC. W. Mitochondrial DNA in aging and disease. *Scientific American*. 1997;8:40-47.
116. Martin GM OJ. Lessons from human progeroid syndromes. *Nature*. 2000;408:263-266.
117. A. MC. Cancer and aging. *Exp Gerontol*. 1986;21:483-495.
118. Ames BN, Shigenaga MK HTM. Mitochondrial decay in aging. *Biochim Biophys Acta*. 1995;1271:165-170.
119. Holmes GE, Bernstein C BH. Oxidative and other DNA damages as the basis of aging: A review. *Mutation Res*. 1992;(275):305-315.
120. Conxi L., Jordan LE. AS. International consensus guidelines for constitutional sequence variant interpretation. Chapter 3. In: *Clinical DNA Variant Interpretation Translational and Applied Genomics Series Theory and Practice*. 2021. p. 29–40.
121. Ungvari Z, Sonntag WE, de Cabo R, Baur JA CA. Mitochondrial Protection by Resveratrol. *Exerc Sport Sci Rev*. 2011;39(3):128-132.
122. Kim MJ, Haroon S, Chen G Di, Ding D, Wanagat J, Liu L, et al. Increased burden of mitochondrial DNA deletions and point mutations in early-onset age-related hearing loss in mitochondrial mutator mice. *Experimental Gerontology*. 2019;125(July):110675.
123. Lin MT, Simon DK, Ahn CH, Kim LM, Flint Beal M. High aggregate burden of somatic mtDNA point mutations in aging and Alzheimer's disease brain. *Human Molecular Genetics*. 2002;11(2):133–45.
124. Dorfmann H, Juan LH, Bonvarlet JP BT. Arthroscopy of degenerative lesions of the internal meniscus. Classification and treatment. *Rev Rhum Mal Osteoartic*. 1987;54(4):303-10.
125. Pauli C, Grogan SP, Patil S, Otsuki S, Hasegawa A, Koziol J, Lotz MK DDD. Macroscopic and histopathologic analysis of human knee menisci in aging and osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011;19(9):1132-41.).
126. Englund M, Guermazi A, Gale D, Hunter DJ, Aliabadi P, Clancy M FDT. Incidental meniscal findings on knee MRI in middle- aged and elderly persons. *N Engl J Med*. 2008;359(11):1108-15.
127. Berthiaume MJ, Raynauld JP, Martel-Pelletier J et al. Meniscal tear and extrusion are strongly associated with progression of symptomatic knee osteoarthritis as assessed by quantitative magnetic resonance imaging. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(4):556-63.
128. Beattie KA, Boulos P, Pui M, O'Neill J, Inglis D, Webber CE AJD. Abnormalities identified in the knees of asymptomatic volunteers using

peripheral magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13(3):1816.

129. Guten GN, Kohn HS ZDJ. 'False positive' MRI of the knee: a literature review study. *WMJ*. 2002;101(1):35-8.
130. Guermazi A, Niu J, Hayashi D, Roemer FW, Englund M, Neogi T, Aliabadi P, McLennan CE FDT. Prevalence of abnormalities in knees detected by MRI in adults without knee osteoarthritis: population based observational study (Framingham Osteoarthritis Study). *BMJ*. 2012;345(1):5339.
131. Sihnoven R., Paavola M., Malmivaara A. et al. Arthroscopic Partial Meniscectomy Versus Sham Surgery for a Degenerative Meniscal Tear. *N Eng J Med*. 2013;369:2515-24.
132. Herrlin SV., Wange PO., Sylvia V. et al. Is arthroscopic surgery beneficial in treating non-traumatic, degenerative medial meniscal tears? A five year follow-up. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2013;21(2):358-364.