



T.C.

**AFYONKARAHİSAR SAĞLIK
BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN HASTALARIN
KOLLAJEN YAPISINDAKİ BOZUKLUKLARIN, TRAVMATİK
MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN HASTALAR İLE KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK GENETİK ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

AFYONKARAHİSAR 2025

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

**DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN
HASTALARIN KOLLAJEN YAPISINDAKİ
BOZUKLUKLARIN, TRAVMATİK MENİSKÜS YIRTIĞI
OLAN HASTALAR İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
GENETİK ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Komisyonu
tarafından 24.TUS.008 proje numarası ile desteklenmiştir.

2025-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.

Tezi Hazırlayanın

Adı Soyadı: Mevlüt ÖZBAHÇE

İmza:

Danışmanın

Ünvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Özal ÖZCAN

İmza:

KABUL VE ONAY

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: Dejeneratif Menisküs Yırtığı Olan Hastaların Kollajen Yapısındaki Bozuklukların, Travmatik Menisküs Yırtığı Olan Hastalar ile Karşılaştırmalı Olarak Genetik Araştırılması

Tezi Hazırlayan: Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE

Tez Savunma Tarihi: 20/11/2025

Tez Kabul Tarihi: 20/11/2025

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özal ÖZCAN

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

Başkan

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Üye

Prof. Dr. Mehmet Nuri KONYA

Üye

Doç. Dr. Murat YEŞİL

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, Prof. Dr. Mehmet Nuri KONYA'ya ve Doç. Dr. Murat YEŞİL'e, Dr. Öğr. Üy. Recep ALTIN'a. Dr. Öğr. Üy. Bilge Kağan YILMAZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma hayatımda bana her zaman destek olan uzman Dr. Mohamed Salah Ahmed Ali, Dr. Çağlar Tuna ISSI, Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER, Dr. Erdal KESKİN, Dr. Sakhı Ahmad FAZLİ, Dr. Osman Emre TOSUN, Dr. Serkan SAVAŞ, Dr. Halil Sami POSTALLI, bir ömür yetecek kadar güzel anılar biriktirdiğim eş kıdemlilerim Dr. Oğuz ŞİMŞEK, Dr. Fatih AY'a teşekkürlerimi sunarım. Aynı klinikte yıllarca birlikte çalışmaktan gurur duyduğum asistan hekim kardeşlerim; Dr. Ramazan KAPLAN, Dr. Musa Can ÇELİKBAŞ, Dr. Osman ŞAN, Dr. Yunus CANDAŞ, Dr. Fatih KAN, Dr. Oğulcan GÖZ, Dr. Mehmet Batuhan TUNCA, Dr. Fazlı TOSUN, Dr. Serkan ÖZDEMİR, Dr. Muhammed Fatih KOŞAR, Dr. Alican TUNA, Dr. Enes Osman DELİKTAŞ, Dr. Orkun AŞÇI, Dr. Enes TOK, Dr. Tuğrul AKÇEŞME'ye teşekkür ederim.

Tezimin genetik kısmının yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan; babam Hayrani ÖZBAHÇE, annem Mesudiye ÖZBAHÇE ve kız kardeşim Fatma Büşra ÖZBAHÇE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tıp fakültesi eğitimim süresince bana her koşulda maddi ve manevi destek olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve bu günlere gelmemde büyük emeği olan dayım Necip ALTUNER ve yengem Necla Nur ALTUNER'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca desteğini ve sevgisini her zaman hissettiren, beni her koşulda anlayışla karşılayan canım ailem; yol arkadaşım, değerli eşim Fadime ÖZBAHÇE'ye ve bu dünyadaki en kıymetli hazinem olan oğlum Muhammed Çınar ÖZBAHÇE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE

Afyonkarahisar, Kasım 2025

**DEJENERATİF MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN
HASTALARIN KOLLAJEN YAPISINDAKİ BOZUKLUKLARIN,
TRAVMATİK MENİSKÜS YIRTIĞI OLAN HASTALAR İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK GENETİK ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi
Kasım 2025
Danışman: Prof. Dr. Özal ÖZCAN**

ÖZET

Amaç: Menisküs yırtıkları diz ekleminin yük dağılımını bozarak ağrı ve fonksiyonel kısıtlılığa yol açan önemli ortopedik patolojilerdir. Travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıkları klinik olarak benzer görünse de bu iki süreç farklı moleküler mekanizmalarla şekillenmektedir. Bu çalışmada, travmatik ve dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalardan elde edilen menisküs dokularında kollajen gen ailesine ait ekspresyon farklılıklarının RNA-Seq yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Travmatik menisküs yırtığı tanısı alan 5 ve dejeneratif menisküs yırtığı tanısı alan 4 hastadan artroskopik cerrahi sırasında alınan menisküs örneklerinden total RNA izolasyonu yapılmış ve RNA-Seq analizi uygulanmıştır. Diferansiyel gen ekspresyonu DESeq2 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiş, p-adj <0.05 istatistiksel anlamlılık eşiği olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Analiz sonucunda iki grup arasında beş genin anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Travmatik menisküslerde *COL14A1* ekspresyonu +3.24 Log2FC, *COL21A1* ekspresyonu ise +2.44 Log2FC artış göstermiş; dejeneratif menisküslerde bu genlerin ekspresyonu belirgin şekilde daha düşük saptanmıştır. Buna karşılık *COL13A1* (-2.64 Log2FC), *COL15A1* (-2.14 Log2FC) ve *COL5A1-AS1* (-1.94 Log2FC) travmatik menisküslerde azalmış olup, bu genlerin dejeneratif menisküslerde daha yüksek düzeyde ifade edildiği görülmüştür. Bu bulgular, travmatik dokularda onarım süreçlerinin daha baskın olduğunu; dejeneratif menisküslerde ise kollajen genlerindeki artışın gecikmiş ancak yetersiz bir onarım yanıtını yansıttığını göstermektedir.

Sonuç: Travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıkları, kollajen gen ailesinde belirgin ekspresyon farklılıkları göstermektedir. Travmatik menisküslerde artan *COL14A1* ve *COL21A1*, akut doku hasarına karşı aktif ECM yeniden yapılanmasını düşündürürken; dejeneratif menisküslerde *COL13A1* ve *COL15A1* gibi genlerdeki artış, kronik süreçte yetersiz bir onarım yanıtını göstermektedir. Bu bulgular, menisküs patolojilerinin değerlendirilmesinde moleküler verilerin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Dejeneratif yırtık, Kollajen, Menisküs, Transkriptom, Travmatik yırtık

COMPARATIVE GENETIC INVESTIGATION OF COLLAGEN STRUCTURE ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH DEGENERATIVE MENISCAL TEAR AND TRAUMATIC MENISCAL TEAR

Mevlüt ÖZBAHÇE

Afyonkarahisar Health Science University
Faculty of Medicine, Department of Orthopedics And Traumatology, Thesis in
Medicine
November 2025

Supervisor: Prof. Dr. Özal ÖZCAN

ABSTRACT

Objective: Meniscal tears are significant orthopedic pathologies that disrupt load distribution in the knee joint, leading to pain and functional limitations. Although traumatic and degenerative meniscal tears may present with similar clinical findings, they arise through distinct molecular mechanisms. This study aimed to identify RNA-Seq-based expression differences within the collagen gene family in meniscal tissues obtained from patients with traumatic and degenerative meniscal tears.

Methods: Meniscal samples were collected during arthroscopic surgery from 5 patients with traumatic and 4 patients with degenerative meniscal tears. Total RNA was isolated and subjected to RNA-Seq analysis. Differential gene expression was evaluated using the DESeq2 software package, with an adjusted p-value (p-adj) <0.05 considered statistically significant.

Results: Five genes showed significant expression differences between the two groups. *COL14A1* (+3.24 Log2FC) and *COL21A1* (+2.44 Log2FC) were upregulated in traumatic menisci, whereas *COL13A1* (-2.64 Log2FC), *COL15A1* (-2.14 Log2FC), and *COL5A1-AS1* (-1.94 Log2FC) were downregulated. These results indicate that traumatic meniscal tissue exhibits a more active acute remodeling and reparative response, while degenerative menisci show reduced collagen stability and limited regenerative capacity.

Conclusion: Traumatic and degenerative meniscal tears display distinct gene expression profiles, particularly within the collagen gene family. Elevated *COL14A1* and *COL21A1* expression in traumatic menisci suggests an active extracellular matrix remodeling response to acute tissue injury, while increased *COL13A1* and *COL15A1* expression in degenerative tissues indicates an inadequate reparative mechanism during chronic degeneration. These results underscore the importance of incorporating molecular-level data into the evaluation of meniscal pathologies.

Keywords: Collagen, Degenerative tear, Meniscus, Transcriptome, Traumatic tear

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE.....	3
2.2. MENİSKÜS ANATOMİSİ VE NÖROANATOMİSİ	3
2.3. MENİSKÜS EMBRİYOLOJİSİ	5
2.4. MENİSKÜS HİSTOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	5
2.5. MENİSKÜS BESLENMESİ VE İNNERVASYONU.....	6
2.6. MENİSKÜS BİYOMEKANİK VE İŞLEVSEL ÖZELLİKLERİ	7
2.7. MENİSKÜS YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ.....	8
2.8. MENİSKÜS YIRTIKLARININ SINIFLAMASI	9
2.9. MENİSKÜS HASARLARINDA KLİNİK BULGULAR VE FİZİK MUAYENE	10
2.10. MENİSKÜS HASARLARINDA GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ.....	11
2.11. MENİSKÜS HASARLARINDA TEDAVİ	13
2.12. MENİSKÜSTE GENETİK FAKTÖRLER.....	15
2.12.1. MENİSKÜS HÜCRELERİNDE GEN EKSPRESYONU VE ECM DÜZENİ	15
2.12.2. TRAVMATİK VE DEJENERATİF MENİSKÜSLERDE GEN PROFİLLERİ.....	16
2.12.3. MENİSKÜS DEJENERASYONUNDA MOLEKÜLER ÖZELLİKLER	16
2.12.4. KOLLAJEN GEN AİLESİ VE EKSPRESYONU	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17

3.1. Çalışma Dizaynı ve Katılımcılar	17
3.1.1. Dahil edilme kriterleri.....	18
3.1.2. Dışlama kriterleri	18
3.2. Cerrahi Prosedür ve Örnek Alınması	18
3.2.1. Preoperatif Hazırlık ve Anestezi.....	18
3.2.2. Hasta Pozisyonu ve Portal Girişleri.....	19
3.2.3. Cerrahi Ekipman ve Teknik Özellikler.....	21
3.2.4. Cerrahi Prosedür ve Örnekleme.....	21
3.2.5. Operasyonun Sonlandırılması ve Postoperatif Bakım.....	24
3.3. Doku Örneklerinin Toplanması ve Saklanması.....	25
3.3. RNA-Seq Analizi	26
3.3.1. Menisküs Dokularından Total RNA İzolasyonu	26
3.3.2. Transkriptom Kütüphane Hazırlığı.....	27
3.3.3. cDNA Sentezi	29
3.3.4. Adaptör Ligasyonu	30
3.3.5. Kütüphane Amplifikasyonu.....	31
3.3.6. Biyoinformatik Analizler.....	32
3.3.6.1. Kalite Kontrol ve Veri Temizleme	32
3.3.6.2. Hizalama (Alignment)	33
3.3.6.3. Count Matrisi ve Diferansiyel Ekspresyon Analizi	33
3.3.6.4. Fonksiyonel ve Zenginleştirme Analizleri.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1 Katılımcıların Demografik ve Klinik Özellikleri	35
4.2. RNA-Seq Veri Kalitesi ve Genel Analiz.....	35
4.3. Diferansiyel Gen Ekspresyonu Analizi	36
4.4. Kollajen Gen Ailesi Ekspresyon Bulguları	37
4.5. Gen Seti Zenginleştirme (GSEA) Bulguları.....	39
4.6. Genel Değerlendirme	40
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
7. SINIRLILIKLAR.....	62
8. KAYNAKLAR	64

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

BT	: Bilgisayarlı Tomografi
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ECM	: Ekstrasellüler matriks
GAG	: Glikozaminoglikan
lig.	: Ligament
MAT	: Menisküs Allogreft Transplantasyonu
mm	: Milimetre
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
ÖÇB	: Ön Çapraz Bağ
RIN	: RNA Integrity Number
RNA	: Ribo Nükleik asit
sn	: Saniye
VKİ	: Vücut Kütle İndeksi
USG	: Ultrasonografi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. RNA İzolasyonunda Kullanılan Reaktifler	27
Tablo 2. rRNA Depletion Aşaması İçin Termalcycler Koşulları	28
Tablo 3. Probe Digestion Aşaması İçin Termalcycler Koşulları.....	28
Tablo 4. RNA Fragmentasyon Aşaması İçin Termalcycler Koşulları	29
Tablo 5. cDNA Sentezi İçin Termalcycler Koşulları	30
Tablo 6. İkinci Zincir Sentezi ve A-Tailing Aşaması İçin Koşullar.....	30
Tablo 7. Adaptör Ligasyonu İçin Termalcycler Koşulları	31
Tablo 8. Amplifikasyon Reaksiyon Koşulları	32
Tablo 9. Travmatik ve dejeneratif menisküs yırtığı olan hastaların demografik ve klinik özellikleri.....	35
Tablo 10. Travmatik vs Dejeneratif Menisküs Örneklerinde Kolajen Genlerinin Ekspresyon Değişimi	38
Tablo 11. Travmatik ve dejeneratif menisküs dokularında kollajen ailesi genlerinin ifade farklılıkları.....	39
Tablo 12. Travmatik (T) ve dejeneratif (D) doku örneklerinde anlamlı düzeyde değişiklik gösteren GSEA yolları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Menisküslerin üstten görünüşü.....	4
Şekil 2. Menisküs Liflerinin Görünümü	6
Şekil 3. Menisküsün kanlanması. (R: Red, W: White)	7
Şekil 4. (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	8
Şekil 5. Menisküs yırtık tipleri. (O'Connor).....	10
Şekil 6. Menisküs eksizyon tipleri	15
Şekil 7. Artroskopik ameliyatı öncesi valgus stresi uygulayabilmek amacı ile lateral desteğin yerleştirilmesi.....	19
Şekil 8. Diz artroskopisinde standart anteromedial ve anterolateral portal yerleşimi	20
Şekil 9. Artroskopi için gerekli cerrahi ekipmanlar.....	21
Şekil 10. Dejeneratif Menisküs Yırtığının Görünümü.....	22
Şekil 11. Travmatik Menisküs Yırtığının Görünümü	22
Şekil 12. Artroskopik punch yardımı ile menisküsün alınması	23
Şekil 13. Artroskopik menisektomi materyallerinin toplanması	23
Şekil 14. Menisküs doku örneğinin saklanması.....	24
Şekil 15. MGI DNBSEQ-T7 Yüksek Kapasiteli DNA/RNA Dizileme Cihazı	26
Şekil 16. RNA-Seq verilerine dayalı ana bileşen analizi (PCA).. ..	36
Şekil 17. Travmatik ve dejeneratif örneklerde diferansiyel gen ekspresyon dağılımını gösteren volkan grafiği.....	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Menisküsler, diz ekleminin medial ve lateralinde bulunan, fibro-kıkırdak yapısında hilal biçimli anatomik oluşumlardır. Bu yapılar, konkav femur kondilleri ile düz tibia platosu arasında eklemleşmeyi kolaylaştırır. Üçgen kesitli bir yapıya sahip olan menisküsler, tibial platonun yaklaşık üçte ikisini örtmektedir. Fonksiyonel açıdan menisküsler; yük aktarımı, darbe emilimi, eklem stabilitesinin korunması, beslenme, eklem sıvısının dağılımı ve propriosepsiyon gibi görevler üstlenir. Ayrıca diz ekleminin uyumunu artırarak temas yüzeyini genişletir ve böylece eklem yüzeyinde oluşabilecek stresleri azaltır (1).

Menisküs yırtıkları, oluşum nedenlerine göre travmatik ve dejeneratif olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Travmatik yırtıklar genellikle genç bireylerde, özellikle sportif aktiviteler sırasında diz eklemine aşırı yük binmesi sonucu ortaya çıkan ani ve akut lezyonlardır. Bu tip yaralanmalarda semptomların başlangıcı doğrudan travmatik olayla ilişkilidir. Buna karşılık dejeneratif menisküs yırtıkları, genellikle yavaş ilerleyen süreçlerdir; belirgin bir travma öyküsü bulunmaz ya da yalnızca minimal düzeyde travma ile gelişir. Dejeneratif yırtıkların patogenezi tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, çoğunlukla 45 yaş üzerindeki bireylerde menisküs dokusunun elastikiyetini kaybetmesi ve yapısal dejeneratif değişikliklerin başlamasıyla ortaya çıktığı bilinmektedir (2).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, menisküs yırtıklarının yalnızca mekanik ve travmatik faktörlerle değil, aynı zamanda genetik ve moleküler mekanizmalarla da ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur. Hücresel düzeyde kollajen yapısındaki değişiklikler, matriks metalloproteinazların aktivitesi, inflamatuvar sitokinlerin rolü ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinde meydana gelen bozulmalar, menisküs dokusunun yapısal bütünlüğünü zayıflatarak yırtıklara zemin hazırlayabilmektedir (3–5). Bununla birlikte gen ekspresyon analizleri, menisküs dokusundaki farklı moleküler yolların travmatik ve dejeneratif süreçlerde farklı şekilde aktive olduğunu göstermektedir (6). Özellikle kollajen ailesine ait genlerde gözlenen bozulmalar, menisküsün esneklik ve dayanıklılığını olumsuz etkileyerek dejeneratif değişikliklerin ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (4,7). Bu nedenle menisküs patolojilerinin genetik altyapısının

aydınlatılması, erken tanı yöntemlerinin geliştirilmesi ve yeni tedavi protokollerinin oluşturulması açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıkları arasındaki genetik ve moleküler farklılıkların ortaya konması amaçlanmaktadır. Literatürde menisküs yırtıklarının biyomekanik ve klinik yönleri geniş ölçüde incelenmiş olsa da gen ekspresyon düzeyinde karşılaştırmalı analizlere yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır (5,6). Özellikle kollajen gen ailesinde meydana gelen değişikliklerin menisküs bütünlüğü ve dejeneratif süreçlerin ilerlemesindeki rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Bu araştırmada, 18–45 yaş aralığında travmatik ve dejeneratif menisküs yırtığı tanısı almış hastalardan artroskopi sırasında elde edilen doku örnekleri üzerinden genom ekspresyon analizi yapılacak, farklı gen ve yolakların bu iki patoloji üzerindeki etkileri değerlendirilecektir. Çalışmanın özgün değeri, menisküs yırtıklarının moleküler temellerini ortaya koyarak, erken tanı, risk belirleme ve gelecekte uygulanabilecek eklem koruyucu tedavi stratejilerine bilimsel katkı sağlamasında yatmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Menisküsün fonksiyonel önemi ve tedavi yaklaşımları, teknolojik ilerlemelerle birlikte büyük bir evrim geçirmiştir. Menisküs lezyonlarına ilişkin ilk bilimsel tanımlama 1784'te Hey Groves'un "Diz Mafsalında Bozukluklar" çalışmasında yapılmış, ilk cerrahi girişim ise 1883'te Dr. Thomas Annandale tarafından açık artrotomi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Annandale, iki yıl sonra yayımladığı "Deplase Semilunar Kıkırdak Ameliyatı" makalesiyle menisküs onarımını bilimsel olarak tanımlayarak cerrahi tedavide bir dönüm noktası oluşturmuştur (8,9).

Artroskopi öncesi dönemde menisküs patolojileri yalnızca açık artrotomiyle tedavi edilebilmekteydi. 20. yüzyılın başlarında total menisektomi standart yöntem olarak uygulanmış, ancak uzun dönem sonuçlarının olumsuzluğu nedeniyle zamanla terk edilmiştir. Nordentoft'un trokar endoskopiyle artroskopiye tanıtması, Ikeuchi'nin 1969'daki ilk artroskopik tamiri ve Henning'in 1980'de Batı'daki uygulamaları, modern menisküs cerrahisinin temelini oluşturmuştur (10–13).

Türkiye'de artroskopi ilk kez 1976'da Dr. Veli Lök tarafından Ege Üniversitesi'nde uygulanmış; menisküs tamiri ise 1988'de Dr. Mehmet Binnet tarafından gerçekleştirilmiş ve 61 olguluk serinin 6 yıllık sonuçları 1994'te yayımlanmıştır (14,15).

2.2. MENİSKÜS ANATOMİSİ VE NÖROANATOMİSİ

Menisküsler, yarım ay biçiminde iki fibröz kıkırdak yapıdır; eklem yüzeyleri arasındaki uyumsuzluğu gidererek diz hareketinin dengeli ve düzgün olmasını sağlar. Dış kenarları kalın ve dışbükey, merkezleri ise incelmıştır; üst yüzeyleri femur kondilleriyle, alt yüzeyleri tibia platosuyla uyumlu eklemleşir (16,17). Her dizde biri medial, diğeri lateral olmak üzere iki menisküs bulunur. Medial menisküs hilal biçiminde ve arka kısmı daha geniştir; lateral menisküs ise dairesel formdadır. Medial menisküs tibial platonun yaklaşık %60'ını, lateral menisküs ise %80'ini kaplar (18,19).

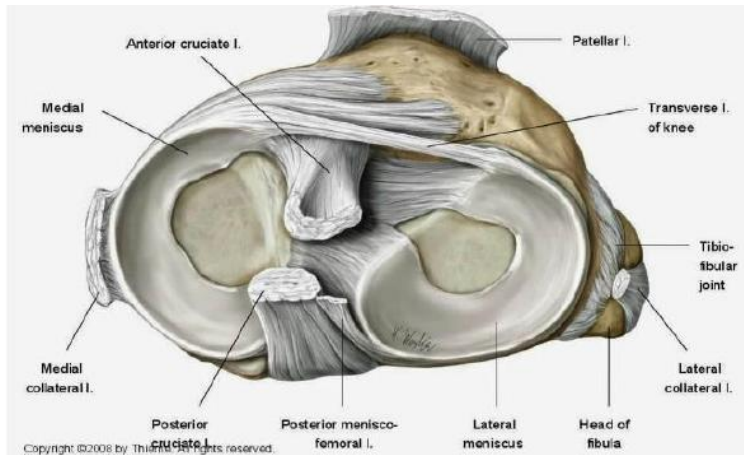
Medial menisküs yaklaşık 3,5 cm uzunluğunda olup ön kısmı dar, arka kısmı geniştir. Ön boynuzu ön çapraz bağ önüne tutunur ve lig. transversum genus aracılığıyla lateral menisküse bağlanır; bu nedenle lateral menisküse göre daha az hareketlidir

(20,21). Kapsüle sıkı tutunması ve koroner ligaman ile tibia bağlantısı, medial menisküsün daha sık yaralanmasına zemin hazırlar. Lateral menisküs ise daha kapalı “C” biçimindedir, kapsüle gevşek tutunur ve posterolateral kısmında popliteus tendonu nedeniyle kapsülle bağlantısı yoktur (20).

Lateral menisküsün ön boynuzu ön çapraz bağın dış-arka kısmına, arka boynuzu ise medial menisküsün arka boynuzu önüne tutunur. Popliteus tendonu menisküsle bütünleşir ve femurun medial kondiline uzanan iki bağ (Wrisberg ve Humphry meniskofemoral ligamentleri) ile desteklenir. Bu bağlardan en az birinin her zaman bulunduğu, her ikisinin birlikte görülme oranının yaklaşık %46 olduğu bildirilmiştir (22,23). Cerrahi olarak menisküsün arka bölgesi önemlidir; medialde safen sinir ve veni, lateralde peroneal sinir ve önde popliteal arter yaralanma riski taşır.

Menisküslerin innervasyonu esas olarak tibial sinirin posterior artiküler dalı ve safen sinirin medial artiküler dalı aracılığıyla sağlanır (24). Bu sinirsel ağ, proprioseptif uyarılarla femurun tibia üzerindeki hareketini düzenleyerek diz stabilitesine katkıda bulunur. Menisküs yaralanmalarında proprioepsiyon belirgin biçimde azalır (25).

Menisküs dokusunda gerilme, sıkışma ve pozisyon değişikliklerini algılayan Ruffini, Pacinian, Golgi ve serbest sinir uçları bulunur (26). Serbest uçlar özellikle arka boynuzda yoğunlaşır ve nosiseptif uyarıların iletiminden sorumludur (27). Eklem hareketinin son açılarında menisküs boynuzları artan strese maruz kaldığından, bu bölgelerdeki mekanoreseptör aktivitesi belirgin biçimde artar (28).



Şekil 1. Menisküslerin üstten görünüşü.

2.3. MENİSKÜS EMBRİYOLOJİSİ

Gebeliğin 4. haftasında alt ekstremité tomurcuğu oluşur ve 7. haftadan itibaren ventrale doğru uzanarak diz eklemine temel yapısını oluşturur (29). Sekizinci haftada menisküsler belirginleşir; başlangıçta tek parça olan alt ekstremité blastemi, diz düzeyinde iki kondrojenik tabaka ve aralarındaki interzonal tabakaya farklılaşır. Eklem yapıları bu ara tabaka içinde gelişir (30).

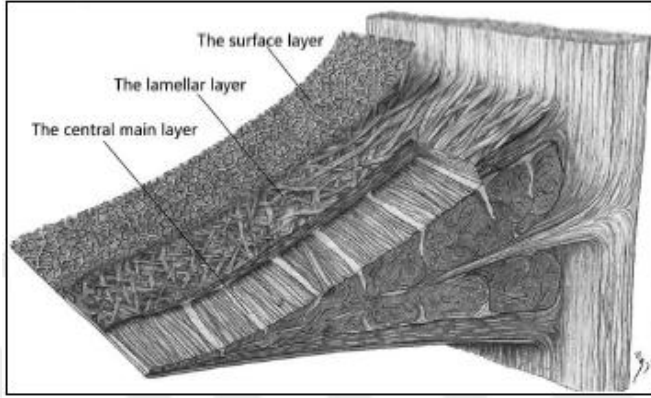
Gebeliğin 8–10. haftaları arasında menisküsler morfolojik özelliklerini kazanmaya başlar ve doğuma kadar karakteristik yapısını tamamlar (18). Fetal dönemde menisküsler tamamen damarlıdır; doğum sonrası vaskülarizasyon giderek azalır ve yalnızca periferik bölgede sürer. Hücre yoğunluğu azalırken kollajen içeriği artar, böylece menisküsler yük taşıma fonksiyonuna uygun olgun yapıya ulaşır (30). Doğumdan sonra damar ağı, menisküslerin yalnızca dış %10–30'luk kısmında devam eder (18).

2.4. MENİSKÜS HİSTOLOJİSİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Menisküsler, hücreler ve ekstrasellüler matriksten oluşan fibrokartilajinöz yapılardır. Temel hücre tipi, kollajen sentezinden sorumlu fibrokondrositlerdir. Periferde fibroblast benzeri oval hücreler, iç kısımda yuvarlak kondrosit benzeri hücreler, yüzeyde ise yassı fibroblast benzeri hücreler bulunur. Bu hücreler birlikte menisküsün yapısal bütünlüğünü ve matriksin sürekliliğini sağlar (31). Bu hücreler damar yapılarından uzak olduğundan, besin ve metabolit taşınımı matriks içi difüzyonla sağlanır (32).

Menisküs dokusunun yaklaşık %70–75'i su, %20–22'si kollajen, %0,6–0,8'i glikozaminoglikan (GAG) ve %0,1 civarı DNA içerir. Kollajenin yaklaşık %90'ı tip I olup, daha az miktarda tip II, III, V ve VI kollajen de bulunur (33). Menisküste tip I kollajenin baskın olması, tip II kollajen ağırlıklı hiyalin kıkırdaktan en temel farkıdır. Ayrıca menisküsün GAG içeriği, eklem kıkırdağının yaklaşık sekizde biri kadardır (30). GAG'lar negatif yüklü, hidrofilik moleküller olup menisküsün sıkışmaya direncini artırır. Kuru ağırlığın %1–2'sini oluşturan proteoglikanlara bağlı GAG'lar suyu bağlar. Kollajen lifler dikey kuvvetleri dairesel streslere dönüştürür; radyal lif hasarı longitudinal, dairesel lif hasarı radyal, vertikal lif hasarı ise horizontal yırtıklara yol açar (34). Menisküsün üst ve alt kısımları, yapının yaklaşık üçte ikisini geçen horizontal yönelimli orta perforan liflerden oluşan özel bir tabaka ile ayrılır (21). Menisküs içindeki kollajen liflerinin

düzeni, dokunun biyomekanik özelliklerini doğrudan belirleyen temel faktörlerden biridir (35). Radyal lifler, sirkumferensiyel lifleri birbirine bağlayarak menisküsün stabilitesini sağlar. Yük taşıma sırasında menisküs periferik itilirken sirkumferensiyel liflerde gerilim oluşur; bu kuvvetlere karşı yapının bütünlüğünü koruyan radyal liflerdir.



Şekil 2. Menisküs Liflerinin Görünümü

2.5. MENİSKÜS BESLENMESİ VE İNNERVASYONU

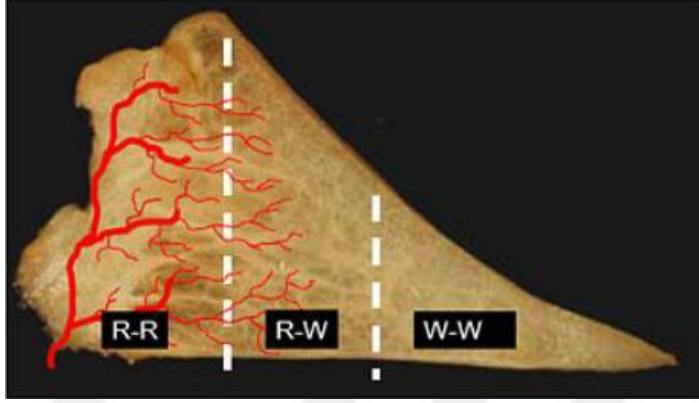
Gestasyonun 8. haftasından postnatal 12. aya kadar menisküsler tüm bölgelerinde damar ve lenfatik yapılara sahiptir. Ancak yürümeyle artan mekanik yükler sonucunda santral damarlar gerileyerek bu bölge avasküler hale gelir (36). Yaklaşık 18. ayda menisküslerin periferik %25–33'lük kısmı damarlıyken, 11 yaş civarında santral alan tamamen avaskülerleşir (12). İkinci dekatta ise yalnızca dış üçte birlik kısım kanlanmasını sürdürür (37). Bu değişim diz hareketleri ve yüklenme ile ilişkilidir.

Periferik kanlanma, medial ve lateral geniküler arterlerin süperior ve inferior dallarından köken alır. Bu damarlar kapsül çevresinde perimeniskal kapiller pleksus oluşturur ve dallarını merkez yönünde uzatır. Ancak lateral menisküsün posterolateralindeki popliteal hiatus damarlanma açısından yoksundur (38). Lateral menisküsün periferik kısmı %10–25, medialinki %10–30 oranında damarlıdır; geri kalan kısımlar sinovyal sıvıdan difüzyon yoluyla beslenir (16).

Menisküsler vaskülarizasyon özelliklerine göre kırmızı-kırmızı, kırmızı-beyaz ve beyaz-beyaz zonlara ayrılır. En iyi kanlanan bölge kırmızı-kırmızı zon olup, beyaz-beyaz zon tamamen avaskülerdir. Kırmızı-beyaz zon sınırlı kanlanma gösterir; ayrıca boynuz bölgeleri gövdeye göre daha yoğun damar ağına sahiptir (32).

Menisküs dokusunda propriyoseptif reseptörlerin bulunduğu gösterilmiştir. Perimeniskal bağ dokusu içinde sinir lifleri ve farklı tiplerde mekanoreseptörler yer alır

(26,39). Serbest sinir uçları perifer ve medial bölgelerde, enkapsüle reseptörler ise ön ve arka boynuzlarda yoğunlaşır. Bu yapılar, eklem aşırı zorlanmalardan korunmasını ve hareketin nörosensoriyel kontrolünü sağlar (40).

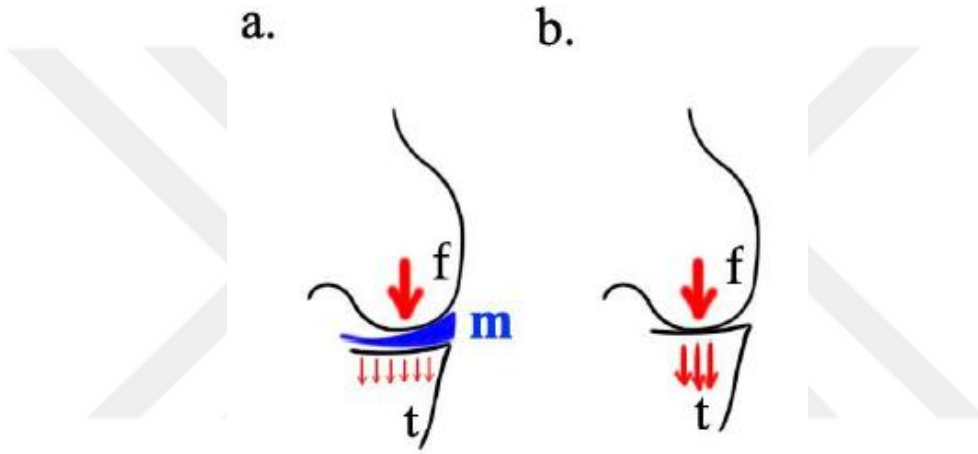


Şekil 3. Menisküsün kanlanması. (R: Red, W: White)

2.6. MENİSKÜS BİYOMEKANİK VE İŞLEVSEL ÖZELLİKLERİ

Menisküsler, yapısal ve biyokimyasal özellikleriyle makaslama, stres ve yüklenme kuvvetlerine direnç gösteren aktif eklem dokularıdır. Önceleri işlevsiz sanılsa da eklem sağlığı için hayati öneme sahiptir. Anatomik ve viskoelastik özellikleri sayesinde yük taşır, darbeleri emer, eklem stabilitesini ve kayganlığını sağlar, propriosepsiyona katkıda bulunur (41). Menisküsler, yük altında şekil değiştirerek eklem yüzeylerinin uyumunu ve yüklerin dengeli dağılmasını sağlar. Dizdeki yükün lateralde %70'i, medialde ise %50'si menisküsler tarafından taşınır (42). Diz ekstansiyonunda yüklerin yaklaşık %50'si, 90° fleksiyonda ise %85'e kadarı menisküsler tarafından taşınır (43). Menisküsler, femur ve tibia arasındaki uyumsuz yüzeyleri uyumlu hale getirip yükü dengeli dağıtır. Temas alanını genişleterek stresi azaltır, hareket sırasında kemiklerle birlikte kayarak eklem stabilitesi ve kayganlığına katkı sağlar (44). Proteoglikanlar, kompresif kuvvetlere direnç sağlar. Hidrofilik yapılarıyla ağırlıklarının 50 katı su depolar ve yüklenmede bunun %20'sini çevre dokuya bırakır (45). Menisküsler yük altında şekil değiştirerek kuvveti dengeli dağıtır, yük kalktığında eski haline dönüp sıvıyı geri emer. Bu süreç hücre beslenmesini ve eklem kayganlığını destekler. Menisektomi sonrası eklem anormal yüklere maruz kalır, kemik yoğunluğu artar ve çıkarılan menisküs miktarıyla orantılı biçimde osteoartrit riski yükselir (43). Parsiyel menisektomide eklem temas alanı %10, total menisektomide %75 azalır. Buna karşılık birim alana düşen yük parsiyelde %65, totalde %235 artar (46,47). Diz fleksiyonda menisküs hareketi eklem uyumunu

artırır. Ancak medial menisküsün hareketsiz posteromedial kısmı, yırtıkların bu bölgede daha sık olmasına neden olur (36). Diz fleksiyonda menisküsler posteriora, ekstansiyonda anteriore hareket eder. İç rotasyonda medial menisküs öne, lateral arkaya; dış rotasyonda ise medial arkaya, lateral öne kayar (48,49). Menisküsler eklem stabilitesine katkı sağlar. Medial menisküsün arka boynuzu, ön çapraz bağ yokluğunda ikincil stabilizatör olarak görev yapar. Çalışmalar, bu durumda medial menisküs yüklenmesinin arttığını göstermiştir (50). Menisküsler, diz stabilitesine yalnızca mekanik değil, propriyoseptif refleks arkı yoluyla işlevsel destek de sağlar (51).



Şekil 4. (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

Medial menisküs yırtıkları, lateral yırtıklara göre yaklaşık üç kat daha sık görülür. Etiyolojik olarak 30 yaş altındaki olgularda travma, 30 yaş üzerindekilerde ise dejeneratif süreçler baskındır (52). Menisküs yırtıklarının yaklaşık %95'i indirekt, %5'i direkt mekanizmalarla oluşur. Direkt nedenler arasında spor yaralanmaları, trafik kazaları ve diz üzerine alınan darbeler yer alır. En sık görülen mekanizma, semifleksiyondaki dizin rotasyonel zorlanmasıdır ve özellikle futbol sırasında ortaya çıkar (53).

Yaşla birlikte menisküs elastikiyetini yitirir; hücre sayısı, kollajen ve GAG içerikleri azalırken su oranı artar. Bu dejeneratif değişiklikler dokunun sertleşmesine ve yatay doğrultuda yırtılmaya eğilimli hale gelmesine neden olur (18). Ayrıca diz dizilimi

bozuklukları, anormal mekanik aks, kuadriseps zayıflığı, eklem instabilitesi ve doğuştan laksisite menisküs yaralanma riskini artırır (52,54). Ancak dejeneratif yırtıkların moleküler mekanizması hâlâ tam olarak açıklanamamıştır (55).

Fleksiyonda medial menisküs 9–10 mm, lateral menisküs ise 2–3 mm posteriora yer değiştirir. Medial arka boynuzun sınırlı mobilitesi bu bölgede sıkışma ve yırtık gelişimine neden olabilir. Ön ve arka boynuz hareket farkı risk oluşturmakla birlikte eklem uyumuna da katkı sağlar (18). Medial menisküsün lig. collaterale tibiale'nin derin tabakasına tutunması, onu lateral menisküse göre daha hareketsiz kılar (56). Bu yapısal kısıtlılık, özellikle valgus yüklenmeleri sırasında travmaya bağlı medial menisküs yırtıklarının daha sık görülmesine zemin hazırlar (57).

2.8. MENİSKÜS YIRTIKLARININ SINIFLAMASI

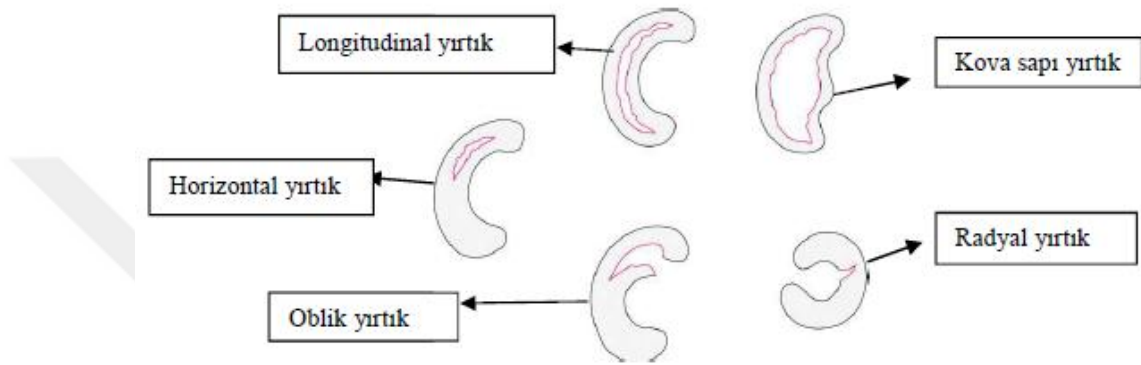
Günümüzde en yaygın kullanılan sınıflandırma, O'Connor'un şekil temelli sistemidir ve menisküs yırtıkları beş ana grupta incelenir: Oblik, horizontal, longitudinal, radyal ve varyant (flep, dejeneratif, kompleks) tipler (58). En sık görülen longitudinal yırtıklar, tam kat ve instabil olduğunda “kova sapı” görünümü alır. Horizontal yırtıklar eklem yüzeyine paralel seyirli olup genellikle iyi iyileşir (59). Oblik ve radyal yırtıklar daha çok lateral menisküste görülür; ön ve orta bölgede ortaya çıkar ve tedavisi zordur (60).

Kompleks dejeneratif yırtıklar çoğunlukla menisküsün arka bölümünde ve özellikle 40 yaş üzeri bireylerde görülür. Birden fazla yırtık tipinin birlikte bulunduğu bu lezyonlar, yüksek vücut kitle indeksi ve ağır iş yükü ile ilişkilidir (61,62). Dejeneratif menisküs yırtıkları için başlıca risk faktörleri; yüksek BMI, sık çömelme-kalkma, merdiven çıkma, diz çökme ve erkek cinsiyettir. Bu riskler aynı zamanda osteoartrit gelişimini de artırır. Menisküs cerrahilerinin yaklaşık %80'inde dejeneratif patoloji söz konusudur ve yırtıklar çoğunlukla arka boynuz ile gövdede yer alır (63,64).

Menisküs yırtıkları kalınlıklarına göre tam kat ve kısmi kat olarak sınıflandırılır. Ayrıca lezyonun damarlanma bölgesine göre üç zon tanımlanır (65);

- 1) Kırmızı-kırmızı bölge yırtıkları, her iki kenarı damarlı alanda ve meniskokapsüler bileşkeden 3 mm içinde yer alır. Bu yırtıklar genellikle iyi iyileşir.

- 2) Kırmızı-beyaz bölge yırtıkları, bir kenarı damarlı diğer kenarı damarsız alanda yer alır. Meniskokapsüler bileşkeden 3–5 mm uzaklıktadır ve genellikle iyileşme potansiyeli taşır.
- 3) Beyaz-beyaz bölge yırtıkları, her iki kenarı avasküler olup bileşkeden 5 mm'den uzaktadır. Bu yırtıkların iyileşme şansı düşüktür ve çoğunlukla ek tedavi gerektirir.



Şekil 5. Menisküs yırtık tipleri. (O'Connor)

2.9. MENİSKÜS HASARLARINDA KLİNİK BULGULAR VE FİZİK MUAYENE

Menisküs tanısı ayrıntılı öyküyle başlar. Şikâyetlerin başlangıcı, seyri ve özellikleri sorgulanır. En sık ağrı ve instabilite, daha az kilitlenme ve şişlik görülür. Ağrı genellikle eklem aralığında hissedilir ve medial ya da lateral hassasiyet tanıda önemlidir.

Kilitlenme, menisküs yırtıklarında dizin tam açılmamasıyla görülür ve genellikle kova sapı yırtığında menisküs parçasının sıkışmasıyla oluşur. Ancak eklem içi cisimler veya tümörler de benzer tabloya yol açabilir. Eklem şişliği travma, hemartroz ya da hidrartroz kaynaklı olabilir. Arka boynuz yırtıklarında boşalma hissi görülebilir; ancak ön çapraz ya da yan bağ rüptürleriyle karışabilir.

Menisküs yırtıklarının ayırıcı tanısında; çapraz ve kollateral bağ yaralanmaları, kıkırdak lezyonları, plika sendromu, Hoffa yağ yastıkçığı inflamasyonu, retinakulum yırtıkları ve eklem içi serbest cisimler dikkate alınmalıdır.

Menisküs tanısında fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyon hareketleriyle ağrı veya takılma hissi aranır. McMurray, Apley, Thessaly, Steinmann, Ege ve ters McMurray

testleri sık kullanılır. Tek başlarına kesin tanı koydurmazlar ancak birlikte uygulandıklarında tanı doğruluğunu artırır (66). Menisküs yaralanmalarında en sık kullanılan testler; eklem aralığı hassasiyeti, McMurray, Apley ve Ege testleridir.

McMurray testi: Hasta sırtüstü yatırılır, hekim bir eliyle ayağı, diğer eliyle dizin posteromedial veya posterolateral kısmını tutar. Diz fleksiyona getirilip rotasyonla ekstansiyona zorlanır. Yırtık varsa klik sesi ve ağrı oluşur. Medial menisküs için dış rotasyon ve varus, lateral için iç rotasyon ve valgus uygulanır. 90° ile tam fleksiyon arasında klik ve ağrı posterior yırtığı, daha ileri açılarda ise anterior veya orta yırtıkları gösterir. Orijinal McMurray testinde yalnızca klik sesi tanı kriteriyken, ağrı bulgusu sonradan eklenmiştir (67).

Apley testi: Özellikle posterior menisküs yırtıklarının tanısında kullanılır. Hasta yüzüstü yatırılır, diz 90° fleksiyona getirilir. Hekim uyluğu sabitleyip topuktan bastırarak kompresyon ve rotasyon uygular; ağrı menisküs yırtığını düşündürür. Distraksiyonla yapılırsa yukarı çekme sırasında ağrı, menisküs değil osteokondral lezyona işaret eder.

Ege testi: Hasta dizleri iç rotasyonda çömelip kalkar; ağrı oluşursa lateral menisküs yırtığı düşünülür. Aynı hareket dizler dış rotasyondayken ağrı yaparsa, medial menisküs yırtığını gösterir.

Eklem aralığı hassasiyeti testi: Diz 90° fleksiyondayken hekim parmak uçlarıyla iç ve dış eklem hattına basınç uygular. Ağrı hissedilmesi ilgili tarafta patolojiyi düşündürür. Testin duyarlılığı yüksek, ancak özgüllüğü düşüktür (68). Bu nedenle testin tek başına tanısallık değeri sınırlıdır; doğruluğu artırmak için diğer menisküs testleriyle birlikte uygulanması önerilir.

2.10. MENİSKÜS HASARLARINDA GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMLERİ

Deneyimli klinisyenler, ayrıntılı muayene ve tanı testleriyle yırtığın tip ve yerini genellikle belirleyebilir. Ancak gelişen görüntüleme yöntemleri günümüzde değerlendirmelerin rutin bir parçası haline gelmiştir.

Direkt radyografi diz değerlendirmesinde ilk basamak yöntemidir. Rutin olarak ön-arka ve yan grafi çekilir; gerekirse tünel veya patella tanjansiyel grafi eklenir.

Ancak menisküs yırtıkları doğrudan görüntülenemez. Bu yöntemle dizin yumuşak dokuları, kemik yapıları ve eklem kompartmanları incelenir. Menisküs yırtıklarında eklem aralığı daralabilir, diskoid menisküste ise genişleyip yükselebilir (69,70).

Artrografi, menisküs ve eklem içi patolojilerin değerlendirilmesinde kullanılan invaziv bir yöntemdir. Suda çözünabilen kontrast maddelerin kullanımıyla uygulama alanı genişlemiş ve yan etkiler azalmıştır (71).

MR ve BT artrografi, menisküs yırtıkları ve iyileşme sürecinin değerlendirilmesinde standart MR'a göre daha yüksek doğruluk sağlar; ancak invaziv oldukları için kullanımları sınırlıdır (72,73).

USG, yüksek çözünürlüklü lineer proba yüzeysel yapıları incelemede kullanılır. Popliteal kistlerin ve benzer lezyonların tanısında yararlıdır. Eklem efüzyonlarını iyi gösterse de menisküs, bağ ve tendon patolojilerinin detaylı değerlendirilmesinde sınırlıdır (74,75).

Bilgisayarlı tomografi (BT), diz eklemine özellikle kırıklar ve kemik tümörlerinin değerlendirilmesinde kullanılır. Artrografiyle birlikte uygulandığında, menisküs ve bağ yırtıklarının tanısında da yararlı olabilir (70). İntraartiküler kontrast enjeksiyonu, patellar kıkırdak, sinovyal plika ve çapraz bağları değerlendirmede faydalıdır. Kontrast madde, yırtık hattına girerek menisküs lezyonlarını daha belirgin hale getirir (76). Ayrıca menisküs tamiri sonrası iyileşmenin değerlendirilmesinde BT artrografinin etkili bir yöntem olduğu bildirilmiştir (73). MRG'nin yaygınlaşmasıyla birlikte, menisküs değerlendirmesinde BT artrografi kullanımı büyük ölçüde terk edilmiş ve rutin uygulamadan çıkmıştır (70).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), diz eklemi değerlendirmesinde en sık kullanılan yöntemdir. Menisküs, bağ ve kemik patolojilerinin tanısında etkilidir. Sagittal kesitlerde üçgen biçimli, hipointens görünür; anterior kök posteriora göre daha küçüktür. MRG'nin duyarlılığı %90, özgüllüğü %95'tir (77). Sagittal MRG'de menisküsler, sinyal artışının dokudaki yayılımı ve eklem yüzeyine ulaşp ulaşmamasına göre sınıflandırılır (78). MRG'de en sık karşılaşılan Grade 3 sinyal değişikliği, medial menisküsün arka boynuzunda izlenmektedir (1).

2.11. MENİSKÜS HASARLARINDA TEDAVİ

Menisküs yırtıkları konservatif ya da cerrahi yöntemlerle tedavi edilir. Cerrahide eksizyon veya onarım uygulanabilir. Günümüzde açık cerrahinin yerini minimal invaziv artroskopik teknikler almıştır. Menisküsün kanlanma ve iyileşme potansiyelinin anlaşılmasıyla onarım öncelikli seçenek olmuştur.

Konservatif tedavi, tam kat olmayan veya stabil menisküs yırtıklarında ilk seçenektir. Bu yırtıklar çoğu zaman kendiliğinden iyileşir ya da asemptomatik kalır. Her menisküs yırtığı cerrahi gerektirmez; tedavi hastanın klinik durumu ve semptomlarına göre planlanır (79). Stabil, 1 cm'den küçük ve belirgin mekanik semptom göstermeyen menisküs yırtıkları konservatif tedaviye en uygun olgulardır (80). Semptomları hafif olan olgularda 6–12 haftalık istirahat, soğuk uygulama ve antiinflamatuvar ilaç tedavisiyle konservatif yaklaşım uygulanabilir (51). İnstabil menisküs yırtıkları genellikle konservatif tedaviye yanıt vermez. Kilitlenme, şiddetli ağrı veya boşalma hissi olan olgularda cerrahi tercih edilir. Ancak hafif semptomlu dejeneratif yırtıklarda konservatif tedavi uygun bir seçenektir (81,82). Konservatif tedavi planında; hastanın yaşı, yırtığın yeri, tipi ve boyutu, yaralanmadan geçen süre gibi faktörler ayrıntılı değerlendirilmelidir.

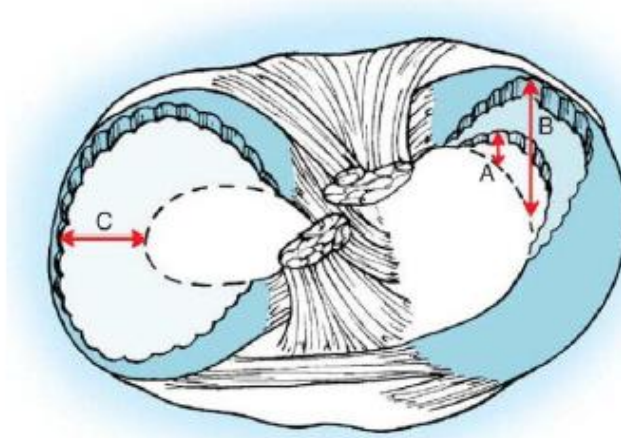
Cerrahi tedavi, konservatif yaklaşıma rağmen ağrı, efüzyon veya kilitlenme devam eden olgularda uygulanır. Genç hastalarda, kanlanması iyi bölgelerdeki akut, travmatik ve 1 cm'den uzun periferik yırtıklar onarım için uygundur. Amaç menisküsü korumaktır. Artroskopiyle yırtığın tipi ve yeri belirlenir; damarlı alanlar onarılır, avasküler bölgelerde menisektomi yapılır. Menisektomi parsiyel, subtotal veya total olabilir ve özellikle santral, horizontal, geniş radyal veya kompleks yırtıklarda tercih edilir (65,83). Menisküs eksizyonları O'Connor tarafından çıkarılan menisküs dokusunun miktarına göre üç grupta sınıflandırılmıştır (58).

1. Parsiyel menisektomi: Bu yöntemde sadece serbest menisküs parçası çıkarılır, sağlam dokular korunur. Böylece stabil bir yapı sağlanır. Avasküler bölgede serbest kova sapı parçasının veya flep yırtığının alınması bu yönteme örnektir.
2. Subtotal menisektomi: Yırtığın tipi ve uzanımı nedeniyle menisküsün periferik kenarının bir bölümünün de çıkarılması gerekebilir. Bu yöntem genellikle posterior boynuzda gelişen kompleks yırtıklarda uygulanmaktadır.

3. Total menisektomi: Menisküsün tamamen çıkarıldığı yöntemdir. Uzun dönem olumsuz sonuçları nedeniyle günümüzde nadiren uygulanır. Yaygın yırtık, doku bozulması veya meniskosinovyal ayrışma durumlarında tercih edilir; ancak menisküs kurtarılabiliyorsa onarım yapılmalıdır (84).

Parsiyel menisektomi, mümkünse subtotal veya total menisektomiye tercih edilir; kalan stabil menisküs diz fonksiyonu için önemlidir. Artroskopide prob ile çıkarılacak ve korunacak kısımlar belirlenir. Amaç, hareketli parçaları temizleyip dengeli bir yapı bırakmaktır. İyileşme fibrovasküler skar dokusuyla olur, bu nedenle menisküs tam fonksiyonunu kazanamayabilir. Menisküs cerrahisinde ileri yaklaşımlardan biri menisküs transplantasyonudur. Meniskal allogreft (MAT), yük taşıma fonksiyonunu geri kazandırıp kıkırdak dejenerasyonunu önlemeyi veya yavaşlatmayı hedefler; ancak etkinliği henüz kesinleşmemiştir (85). Total veya subtotal menisektomi hastalarında MAT uygun olabilir; parsiyel menisektomide genellikle gerekmez. Periferik dokusu sağlam hastalarda sentetik meniskal iskelet implantasyonu ile menisküs yapısı korunur, eklem biyomekaniği desteklenir ve kıkırdak hasarı önlenir (86). İyileşmeyi etkileyen faktörler;

- Hastanın Yaşı: Menisküs tamirinde 40–50 yaş üst sınır kabul edilse de esas kriter doku dejenerasyonudur. İleri yaş tek başına engel değildir, fakat dejenerasyon başarıyı azaltabilir.
- Akut/Kronik Olması: Akut menisküs tamirleri genellikle kronik olanlara göre daha başarılıdır; ancak bazı çalışmalar yırtık süresinin tek başına belirleyici olmadığını ve kronik yırtıklarda iyi sonuç alınabileceğini göstermektedir (87).
- Yırtık Yerleşimi: Menisküs tamirinde önemli bir faktördür. Meniskokapsüler bileşkeden 3 mm uzaklıktaki kırmızı-kırmızı yırtıklar, iyi kanlanma nedeniyle yüksek iyileşme olasılığı taşır (88).
- Dizin Stabilitesi: Menisküs tamirinde en iyi sonuçlar, aynı seansta ÖÇB rekonstrüksiyonu yapılanlarda görülür. İzole menisküs yırtıkları ikinci sıradadır; diz instabilitesi olanlarda başarı düşer.



Şekil 6. Menisküs eksizyon tipleri. A: Parsiyel menisektomi, B: Subtotal menisektomi, C: Total menisektomi

2.12. MENİSKÜSTE GENETİK FAKTÖRLER

Menisküs, diz ekleminin yük taşıma, şok emilimi ve stabilizasyonunu sağlayan fibro-kıkırdak yapıdır. Bütünlüğü, hücrelerin ürettiği ECM bileşenleri, kollajen, proteoglikan, glikoprotein ve su ile sağlanır. Bu bileşenlerin sentezi ve düzenlenmesi RNA aracılığıyla kontrol edilir. Transkriptomik çalışmalar, menisküsün pasif değil, genetik olarak aktif bir doku olduğunu göstermiştir. Özellikle kollajen gen ailesi (*COL1A1*, *COL2A1*, *COL3A1*, *COL5A1*) dayanıklılık ve dejeneratif direnç için kritik önemdedir (89).

2.12.1. MENİSKÜS HÜCRELERİNDE GEN EKSPRESYONU VE ECM DÜZENİ

Menisküs fibro-kondrositleri, ECM'in sentezi ve yapısal bütünlüğünden sorumludur. *COL1A1*, *COL2A1* ve *COL3A1* genleri temel rol oynar. Dejeneratif menisküste *COL5A1*, *COL11A1* ve *ADAMTS5* genlerinin ekspresyonu artarken, *MMP10* ve *MMP12* genlerinin ekspresyonu azalmaktadır (89). Bu bulgular, menisküs dokusundaki RNA düzeyindeki değişimlerin ECM'nin yapısal bileşenleriyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir.

Formalinle fikse edilip parafine gömülmüş menisküs örneklerinden izole edilen RNA analizlerinde, menisküsün *COL1A1*, *COL3A1* ve *COL5A1* gibi kollajen genlerini yüksek düzeyde ifade ettiği bildirilmiştir (90).

2.12.2. TRAVMATİK VE DEJENERATİF MENİSKÜSLERDE GEN PROFİLLERİ

Travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıkları arasında gen ekspresyon farklılıkları gözlenmiştir; travmatik olgularda *IL8*, *CXCL6*, *MMP1* ve *MMP3* genleri, dejeneratif olgularda ise *COL1A1* yüksek düzeyde ifade edilir (6). Bu veriler, travmatik olgularda inflamatuvar ve katabolik süreçlerin, dejeneratif olgularda ise ECM yeniden yapılanmasının daha baskın olduğunu göstermektedir.

2.12.3. MENİSKÜS DEJENERASYONUNDA MOLEKÜLER ÖZELLİKLER

Menisküs dokusu histolojik olarak sağlam görünse de moleküler düzeyde dejeneratif değişiklikler bulunabilir. Travmatik menisküs yırtığı olan hastalarda yapılan incelemelerde dejenerasyon skorunun yüksek olduğu ve kollajen organizasyonunun bozulduğu gösterilmiştir (91). Bu olgularda *COL1A1* gen ekspresyonu azalırken, *MMP1* ve *MMP3* ekspresyonu artmıştır. Bu bulgular, travmatik menisküslerde bile ECM bileşenlerinin RNA düzeyinde yeniden düzenlendiğini göstermektedir.

2.12.4. KOLLAJEN GEN AİLESİ VE EKSPRESYONU

Menisküs kollajen liflerinin biyosentezi, RNA aracılığıyla gen transkripsiyonu ile gerçekleşir. Tip I kollajen, *COL1A1* ve *COL1A2*; tip II kollajen ise *COL2A1* genlerinden üretilir. Bu genlerin ekspresyon düzeyleri menisküsün bölgesine, yaşa ve dejenerasyon derecesine göre değişir (89). *SOX9* geni, kondrosit farklılaşmasının temel transkripsiyon faktörlerinden biridir; ekspresyonunun azalması *COL2A1* transkripsiyonunun düşmesine yol açar (92). *TIMP1* ve *MMP* genleri arasındaki denge ise ECM'nin yeniden yapılanmasında belirleyici rol oynamaktadır (93). Bu veriler, menisküsün yapısal ve biyolojik özelliklerinin RNA düzeyindeki gen ekspresyonu ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Kollajen sentezi ve ECM bütünlüğü, genetik regülasyonun sürekliliğine bağlıdır; bu dengenin bozulması menisküs dokusunun dayanıklılığını azaltmaktadır (91).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı ve Katılımcılar

Bu çalışma, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği'nde prospektif olarak planlanmıştır. Çalışmaya; 18–45 yaş aralığında olup menisküs yırtığı tanısıyla artroskopik cerrahi uygulanan toplam 9 hasta dahil edilmiştir. Menisküs doku örneklerinden izole edilen total RNA'ların bütünlüğü, dizileme sürecinin güvenilirliği açısından kritik öneme sahip olup, bu çalışmada kalite kontrolün temel göstergesi olarak RNA Integrity Number (RIN) skorları kullanılmıştır. RIN, ribozomal RNA oranları ve amplifikasyon ürünlerinin homojenliği temelinde RNA degradasyon düzeyini nicel olarak yansıtan bir parametredir. Tüm örneklerde RIN değerlerinin 7,0 ve üzerinde bulunması, RNA zincirlerinde anlamlı bir yıkımın gerçekleşmediğini ve örneklerin yüksek bütünlükte olduğunu göstermektedir. Bu sonuç hem ribozomal hem de mRNA bileşenlerinin korunduğunu ve elde edilen RNA'ların yüksek verimli dizileme (high-throughput sequencing) analizlerine uygun olduğunu doğrulamaktadır. Toplam 20 örnekten RNA izolasyonu yapılmıştır. Fakat söz konusu örneklerin 9'unun RIN değeri transkriptomik çalışma için uygun bulunmuştur. Hastalardan 5'i travmatik menisküs yırtığı, 4'ü dejeneratif menisküs yırtığı tanısı almıştır.

Bu tez çalışmasının etik uygunluğu Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu tarafından 06.09.2024 tarihli ve 2024/7 sayılı kararla onaylanmıştır. Çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 24.TUS.008 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Araştırma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı iş birliğiyle multidisipliner olarak yürütülmüştür. Çalışmaya başlanmadan önce tüm katılımcılara araştırmanın amacı ve kapsamı hakkında ayrıntılı bilgi verilmiş ardından Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) imzalatılarak etik ilkeler doğrultusunda çalışma süreci başlatılmıştır.

3.1.1. Dahil edilme kriterleri

- 18–45 yaş aralığında olmak,
- Travmatik grup için: Diz bölgesine major travma öyküsü bulunması ve akut menisküs yırtığı tanısı almış olmak,
- Dejeneratif grup için: Belirgin travma öyküsü bulunmaksızın dejeneratif menisküs yırtığı tanısı almış olmak.

3.1.2. Dışlama kriterleri

- 18 yaş altı ve 45 yaş üstü olmak,
- İnflamatuvar eklem hastalıklarının varlığı,
- Aynı dizden geçirilmiş daha önceki cerrahi operasyon öyküsü,
- Cerrahi alan bölgesinde aktif enfeksiyon bulunması,
- Cerrahi alana daha önce radyoterapi uygulanmış olması,
- Aktif malignite tanısı ile kemoterapi/radyoterapi almakta olmak.

3.2. Cerrahi Prosedür ve Örnek Alınması

3.2.1. Preoperatif Hazırlık ve Anestezi

Artroskopik cerrahi uygulanacak olgular operasyon öncesinde klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri tamamlanarak bir gün önceden servise yatırıldı. Ameliyat öncesi rutin tetkikler yapıldı ve tüm hastalara enfeksiyon profilaksisi amacıyla operasyon başlangıcından yaklaşık 30 dakika önce 1 gram sefazolin intravenöz olarak uygulandı. Kullanılacak artroskopik sistemler, optik setler ve menisküs tamir ekipmanlarının sterilizasyon ve işlev kontrolleri operasyon öncesi titizlikle yapıldı.

Hastalara klinik durumlarına göre spinal veya genel anestezi uygulandı. Uygulama sonrası hasta ameliyat masasına supin pozisyonunda yerleştirildi. Uyluğun proksimaline pnömatik turnike sarılarak sabitlendi. Femur destek aparatıyla stabilize edildi, diz eklemi operasyon alanına uygun fleksiyon pozisyonuna getirildi. Cerrahi sahaya %10 povidon-iyot solüsyonu ile antisepsi uygulandı ve steril örtülerle izole edildi.



Şekil 7. Artroskopi ameliyatı öncesi valgus stresi uygulayabilmek amacı ile lateral desteğin yerleştirilmesi

3.2.2. Hasta Pozisyonu ve Portal Girişleri

Artroskopi ortopedi ve travmatoloji ekibi tarafından gerçekleştirildi. Standart anterolateral portal, Watanabe tarafından tanımlanan klasik giriş yolu kullanılarak açıldı. Bu nokta, diz fleksiyondayken patellar tendonun lateral kenarı ile tibial plato arasındaki “soft point” olarak bilinen bölgeye karşılık gelmektedir. Daha sonra artroskop yerleştirilerek suprapatellar boşluk, patellofemoral eklem ve trohlear oluk gözlendi.



Şekil 8. Diz artroskopisinde standart anteromedial ve anterolateral portal yerleşimi

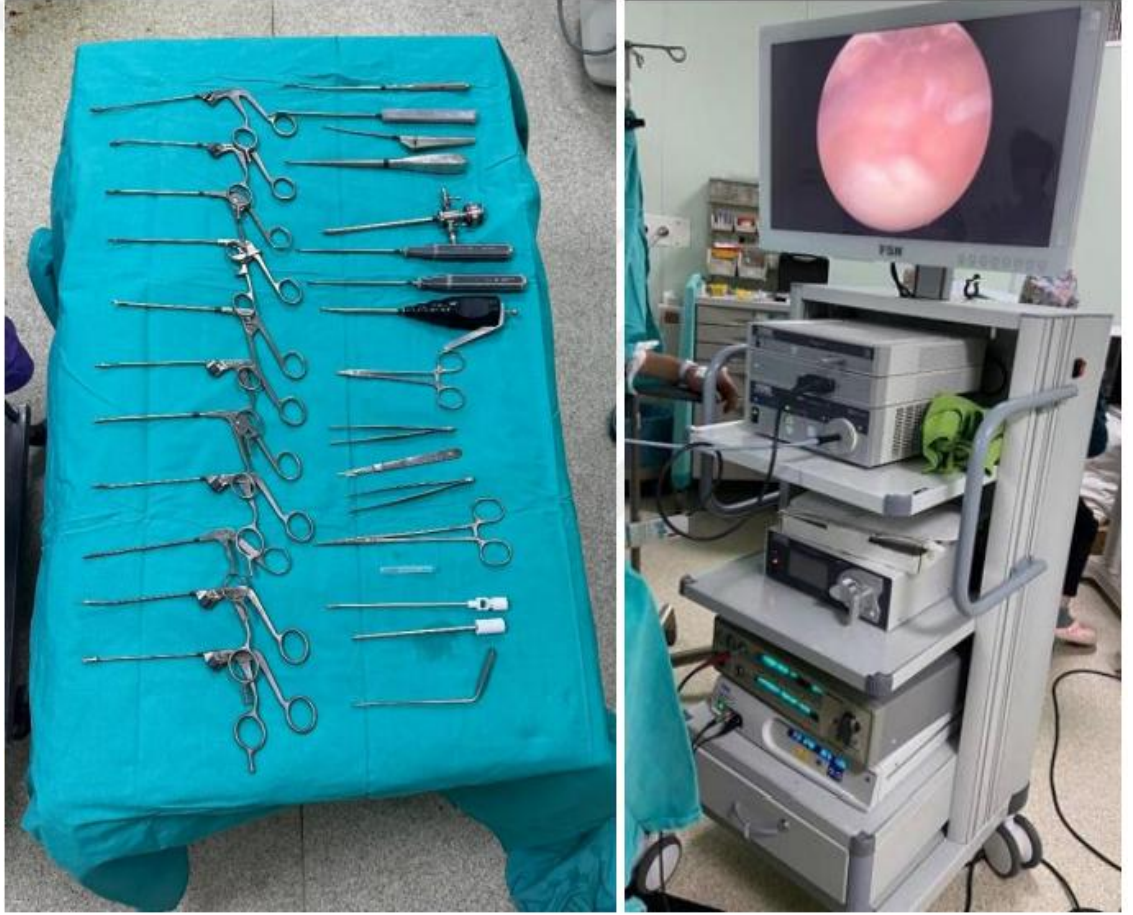
Ardından anteromedial portal açılarak prob ve cerrahi enstrümanlar ekleme yerleştirildi. Medial menisküsün ön boynuzu, interkondiler bölge ve çapraz bağlar ayrıntılı biçimde değerlendirildi.

Her olguda intraartiküler yapılar prob yardımıyla sistematik biçimde muayene edildi. Menisküslerin morfolojisi, yırtık lokalizasyonu, tipi, stabilitesi, kondral yüzeyler ve bağ bütünlüğü ayrıntılı olarak değerlendirildi. Gerekli durumlarda görüntü kalitesini

artırmak için infrapatellar yağ dokusu (Hoffa) artroskopik tıraşlayıcı (shaver) yardımıyla temizlendi.

3.2.3. Cerrahi Ekipman ve Teknik Özellikler

Operasyonlarda kullanılan başlıca ekipmanlar arasında artroskopi kulesi, monitör, kamera sistemi, 30° optik, trokar, shaver, sıvı aspirasyon sistemi, radyofrekans ablasyon cihazı, artroskopik koter ve kayıt cihazı yer aldı. Ayrıca menisküs tamir seti, mikrokırık el aletleri ve ÖÇB rekonstrüksiyon setleri olası ihtiyaçlar için steril şekilde hazır bulunduruldu.



Şekil 9. Artroskopi için gerekli cerrahi ekipmanlar

3.2.4. Cerrahi Prosedür ve Örnekleme

Artroskop anterolateral portaldan eklem içine yerleştirildikten sonra dizin tüm kompartmanları sırasıyla değerlendirildi. Medial ve lateral menisküsler, bağ yapıları ve

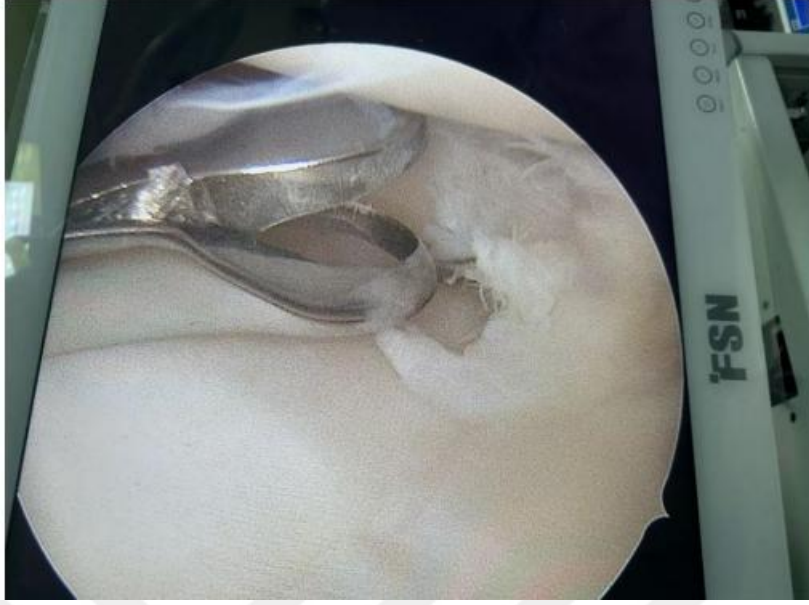
kıkırdak yüzeyleri prob ile kontrol edilerek yırtık tipi ve yırtığın tamire uygunluğu belirlendi.



Şekil 10. Dejeneratif Menisküs Yırtığının Görünümü



Şekil 11. Travmatik Menisküs Yırtığının Görünümü



Şekil 12. Artroskopik punch yardımı ile menisküsün alınması



Şekil 13. Artroskopik menisektomi materyallerinin toplanması

Tamir için uygun olmayan olgularda parsiyel menisektomi işlemi gerçekleştirildi. Menisektomi sırasında çıkarılan menisküs dokuları, steril pens yardımıyla dikkatlice toplanarak RNA-Seq analizinde kullanılmak üzere ayrı numune kaplarına alındı. Numuneler, kontaminasyonu önlemek amacıyla steril koşullarda uygun saklama solüsyonuna yerleştirildi.



Şekil 14. Menisküs doku örneğinin saklanması

3.2.5. Operasyonun Sonlandırılması ve Postoperatif Bakım

Cerrahi işlemin tamamlanmasının ardından turnike basıncı yavaşça düşürülerek kanama kontrolü sağlandı. Portal giriş yerleri tek tek sütüre edildi, operasyon sahasına steril pansuman uygulandı ve elastik bandaj sarıldı. Tüm hastalar postoperatif erken dönemde diz eklemi hareket açıklığı ve olası komplikasyonlar açısından gözlem altına alındı.

3.3. Doku Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Menisküs dokuları artroskopik cerrahi sırasında yalnızca debridman işlemi sırasında elde edilmiştir. Bu işlem kapsamında hastalara ek bir cerrahi girişim uygulanmamış olup yalnızca klinik gereklilik doğrultusunda çıkarılan dokular çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

Toplanan menisküs dokuları travmatik ve dejeneratif gruplar için ayrı ayrı etiketlenmiştir. Örnekler RNA bütünlüğünü korumak amacıyla RNAlater solüsyonu içerisinde bekletilmiş ve ardından -20°C’de derin dondurucuda saklanmıştır. Bu koşullar altında RNA izolasyonu yapılana kadar dokuların bozulmadan muhafaza edilmesi sağlanmıştır.

3.3. RNA-Seq Analizi



Şekil 15. MGI DNBSEQ-T7 Yüksek Kapasiteli DNA/RNA Dizileme Cihazı

3.3.1. Menisküs Dokularından Total RNA İzolasyonu

Menisküs doku örnekleri QIAGEN RNeasy Protect Tissue Reagent (Katalog No: 76106) içerisinde toplanmış ve RNA izolasyon aşamasına kadar -20°C sıcaklıkta saklanmıştır. RNA izolasyonu için solüsyon içerisinde çıkarılan dokular kuru buz üzerinde 10 dk inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası dokuların üzerine 700 µl QIAzol Lysis Reagent (Katalog No: 79306) eklenerek homojenizasyon aşamasına geçilmiştir. Homojenizasyon için dokular

Heidolph silent crusher M homojenizatör ile 15 sn 9.000 rpm hızda homojenize edilmiştir. Homojenize edilen dokular 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra üzerine 1/5 oranında (140 ul) kloroform eklenmiştir.

Örnekler 30 sn vortekslelendikten sonra 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 13.300 rpm +4°C sıcaklıkta 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası supernatant yeni tüpe aktarılarak üzerine 350 ul izopropanol eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Örnekler 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 13.300 rpm +4°C sıcaklıkta 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası supernatant atılmış ve pelet üzerine 700 ul %70 etanol eklenmiştir. %70 etanol ile yıkanan pelet 13.300 rpm +4°C sıcaklıkta 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası supernatant atılarak pelet üzerine tekrar 700 ul %70 etanol eklenmiştir. Örnekler 13.300 rpm +4°C sıcaklıkta 5 dk santrifüj edilmiş ve supernatant atıldıktan sonra pelet oda sıcaklığında 15 dk kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan pelet 20 ul DNase/RNase free su ile çözünmüştür.

RNA bütünlüğü örneklerin jel elektroforez yöntemiyle ayrıştırılarak kontrol edilmiştir. RNA saflığı ve konsantrasyonu; OD260/280 ve OD260/230 değerleri dikkate alınarak Multiskan Sky (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) nanodrop cihazı ile ölçülmüştür (Tablo 1).

Tablo 1. RNA İzolasyonunda Kullanılan Reaktifler

Reaktif	Katalog No	Hacim / Miktar
RNAprotect Tissue Reagent	76106	1 mL / örnek
QIAzol Lysis Reagent	79306	700 µL
Kloroform	—	140 µL
İzopropanol	—	350 µL
%70 Etanol	—	700 µL (×2)
DNase/RNase-Free Water	—	20 µL

3.3.2. Transkriptom Kütüphane Hazırlığı

Transkriptom çalışması İntergen Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde hizmet alımıyla yapılmıştır. mRNA kütüphaneleri, kit protokolüne uygun olarak hazırlandı ve sırasıyla Watchmaker Polaris Depletion Kit – rRNA/Globin (HMR) (K0105) ile Watchmaker RNA Library Prep Kit (K0078) kullanılmıştır. Daha önce

ölçülen örnekler, 18ul nukelaz içermeyen su içerisinde 200 ng RNA örneği olacak şekilde süspanse edilmiştir. Thermalcyclers aşağıda belirtildiği gibi önceden ısıtılmış ve hazırlanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. rRNA Depletion Aşaması İçin Thermalcyclers Koşulları

Step	Temperature	Time
Lid temperature	80°C	N/A
HOLD	77°C	HOLD
Denaturation	77°C	2 min
rRNA Digestion	65°C	15 min
HOLD	4°C	HOLD

Her tüpe 4,5ul depletion karışımı ve 2,5ul depletion probu (rRNA ve globulin) eklenerek thermalcyclers içerisine yerleştirilmiştir. Belirtilen derecelerde inkübasyonu biten örnekler alınarak prob kesimi aşamasına geçilmiştir. Bu aşamaya başlamadan önce de thermalcyclers önceden soğutulmuş hazırlanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Probe Digestion Aşaması İçin Thermalcyclers Koşulları

Step	Temperature	Time
Lid temperature	40°C	N/A
Pre-cooling	4°C	HOLD
Probe digestion	37°C	10 min
HOLD	4°C	HOLD

Her bir örneğin üzerine kit içeriğinde bulunan digestion mix. 36ul hacimde ilave edilmiş ve örnekler önceden soğutulmuş thermalcyclers içerisine yerleştirilmiştir.

Depletion işleminin ardından örnekler olası prob ve DNA kontaminasyonunun önlenmesi için saflaştırılmıştır. Bu doğrultuda önceden oda ısısına getirilen pürifikasyon bilyeleri (DNA clean beads) kullanılmıştır. Her örneğe 108ul (örnek hacminin 1,8 katı olacak şekilde) manyetik bilyeler eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Örnekler oda ısısında 5dk inkübe edilerek RNA'ların bu bilyelere tutunması sağlanmıştır. Daha sonra tüpler manyetik ayrıştırıcı plakaların üzerlerine koyulmuş ve üzerine RNA'ların tutunduğu manyetik bilyelerin solüsyondan ayrışması beklenmiştir. Geriye kalan solüsyon tüplerden

uzaklaştırılmış ve manyetik bilyeler rahatsız edilmeden örnekler taze yapılmış %80 etanol ile yıkanmıştır. Tüplerdeki etanolün uçması beklenmiş ve hemen fragmentasyon aşamasına geçilmiştir. Bu doğrultuda thermalcycler daha önceden soğutulmuş ve aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. RNA Fragmentasyon Aşaması İçin Thermalcycler Koşulları

Step	Temperature	Time
Lid temperature	105°C	N/A
Pre-cooling	4°C	HOLD
RNA fragmentation	85°C	3min
HOLD (Priming)	12°C	HOLD

Fragmentasyon süresi RNA bütünlüğüne göre optimize edilmiş ve 85 °C’de 3 dk olarak uygulanmıştır.

3.3.3. cDNA Sentezi

Fragmentasyon sıcaklığı ve süresi ilk basmakta bakılan RNA integritesine ve istenilen girdi büyüklüğüne göre ayarlanmıştır. Bu doğrultuda fragmentasyon süresi 85°C’de 3dk olacak şekilde optimize edilmiştir.

Fragmentasyon işleminin ardından örnekler tekrar manyetik ayırıştırıcılara yerleştirilmiş ve bilyelerin seperasyonu beklenmiştir. Bu sefer elde edilen süpernatanttan 25ul alınarak yeni tüplere aktarılmıştır.

Fragmente örneklerden cDNA oluşturma işlemi (1st strand synthesis) için thermalcycler aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmış ve önceden soğutulmuştur (Tablo 5).

Tablo 5. cDNA Sentezi İçin Thermalcycler Koşulları

Step	Temperature	Time
Lid temperature	105°C	N/A
Pre-cooling	4°C	HOLD
cDNA Synthesis	25°C	10 min
	42°C	15 min
RT Inactivation	70°C	15 min
HOLD	4°C	HOLD

Her bir örneğe 9ul 1st strand tampon ve 1ul 1st strand enzimi eklenerek yukarıda belirtilen kondisyonlarda inkübasyonu sağlanmıştır.

cDNA çevrimi biten örnekler hemen 2. Zincir sentezi ve Poly-A kuyruklarının eklenmesi için kullanılmıştır. Bu doğrultuda thermalcycler tekrardan soğutularak aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. İkinci Zincir Sentezi ve A-Tailing Aşaması İçin Koşullar

Step	Temperature	Time
Lid temperature	80°C	N/A
Pre-cooling	4°C	HOLD
2nd Strand Synthesis	42°C	5 min
A-Tailing	62°C	10 min
HOLD	4°C	HOLD

Her bir örneğe 14ul 2nd strand tampon ve 1ul enzim eklendikten sonra yukarıdaki reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Daha sonra adaptor ligasyon işlemine geçilmiştir.

3.3.4. Adaptör Ligasyonu

Adaptör ligasyon işlemi için her örneğe farklı adaptor sekansları eklenmiştir. Bu adaptörler daha sonra kütüphanelerin biyoinformatik olarak incelenmesinde, her bir örneğin insan genomuna hizalanma miktarının ölçülmesi için kullanılacağından önem arz etmektedir. Her bir adaptörün bir önceki basmakta eklenen poly-A kuyruklarına

ligasyonu sağlanacaktır. Bu doğrultuda thermal cycler tekrar soğutularak aşağıdaki reaksiyon sıcaklık ve süreleri ayarlanmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Adaptör Ligasyonu İçin Thermalcycler Koşulları

Step	Temperature	Time
Lid temperature	OFF	N/A
Pre-cooling	4°C	HOLD
Ligation	20°C	15 min
HOLD	4°C	HOLD ¹

Kullanılacak adaptör konsantrasyonları, kütüphane hazırlığına başlarken kullanılan RNA miktarına göre optimize edilmiş ve 0,5 µM olarak seyreltilmiştir. Her tüpe ayrı ayrı 5 µL seyreltilmiş adaptör eklenmiştir. Daha sonra Ligation Master Mix, 40ul ligasyon tampon ve 5ul ligaz enzimi ile hazırlanarak örnekler ile karıştırılmıştır.

Oluşturulan kütüphaneler çoğaltılmadan önce olası kontaminasyonları engellemek için tekrar manyetik bilyeler kullanılarak temizlenecektir. Bu doğrultuda manyetik bilyeler tekrar oda sıcaklığına kalibre edilmiştir. Her bir örneğe 70ul (rnek hacmini 0,7 katı) manyetik bilye eklenerek yukarıda daha önce bahsedilen basamaklar uygulanmıştır. İnkübasyon, yıkama ve kurutma işlemleri sonunda bilyelere 22ul TE solüsyonu (10 mM Tris-HCl, pH 8.0) eklenerek czlmş ve oda ısısında 5dk RNA kütüphanelerinin manyetik bilyelerden ayrışması beklenmiştir. Tüpler tekrar manyetik ayrıştırıcılara konularak bilyelerin tutulması sağlanmış ve spernetan içerisinde bulunan örnekler 20ul hacim içerisinde yeni bir tüpe aktarılmıştır.

3.3.5. Kütüphane Amplifikasyonu

Elde edilen ve indexlenen kütüphaneler sekanslanmadan önce cğaltılmalıdır. Bu doğrultuda amplifikasyon mixi 25ul Equinox Amplification Master Mix (2X) ve 5ul amplifikasyon primerlerin karıştırılması ile hazırlanarak her bir örneğe eklenmiştir. Thermalcycler aşağıdaki reaksiyon koşullarında hazırlanmıştır (Tablo 8).

Tablo 8. Amplifikasyon Reaksiyon Koşulları

Step ¹	Temperature	Time	Cycles
Lid temperature	105°C	N/A	N/A
Initial Denaturation	98°C	45 sec	1
Denaturation	98°C	15 sec	
Annealing	56°C	30 sec	18°C
Extension	72°C	30-45 sec	
Final extension	72°C	60 sec	1
HOLD	12°C	HOLD	-

Annealing derecesi kullanılan primerlere göre 56°C olarak ayarlanmış olup, cycle sayıları başlangıç RNA miktarına göre 18 döngü olacak şekilde optimize edilmiştir.

Amplifikasyon sonunda kütüphaneler sekanslanmadan önce son olarak pürifiye edilmiştir. Bu doğrultuda manyetik boncuklar tekrar oda ısısına getirilmiş ve her bir örneğe 50ul (örnek hacmi kadar) manyetik boncuk eklenmiş ve oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha önceki kısımlarda belirtildiği gibi bilyeler etanol ile yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulmuş bilyeler üzerine 22ul TE tampon eklenmiş ve örnekler 5dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Tüpler tekrar manyetik separatöre konularak ayrıştırılmış ve 20ul supernatant farklı bir tüpe alınmıştır. Kütüphaneler skanslanmadan önce Qubit® Fluorometer yardımı ile ölçülmüştür.

3.3.6. Biyoinformatik Analizler

Sekanslama işleminden elde edilen ham veriler **Linux** işletim sistemi ortamında analiz edilmiştir.

3.3.6.1. Kalite Kontrol ve Veri Temizleme

Sekans işleminden elde edilen ham data işlenmesi linux işletim sisteminde başlamaktadır ve genlerin ekspresyon seviyeleri elde edildikten sonra ise iDEP 2.0 erişime açık internet bazlı araçta devam etmektedir. Verilerin analizine başlamak için ilk adım, ham verilerin kalite kontrolüdür; kısa okumaların depolandığı örneklerle ait çift yönlü fastq'lar alınıp FastQC (v0.11.9) kullanılarak kalitesi değerlendirilmiştir. Kalite

kontrolünü geçen örnekler, adaptör artıklarını temizlemek için cutadapt (v3.5) aracı kullanılarak işlenmiştir. Sonrasında kalite kontrolü tekrar yapıp sonuçlar MultiQC (v1.21) aracı ile toparlanıp, hizalama öncesi değişiklik araştırılmıştır.

3.3.6.2. Hizalama (Alignment)

Ensembl veri seti kullanılarak STAR (Splice-aware aligner) aracı ile RNA-seq verileri GRCh38 genomu üzerine hizalanmıştır. STAR (v2.7.11b) aracını kullanabilmek için öncelikle veritabanından genom dizisinin yer aldığı FASTA formatlı ve GTF formatındaki anotasyon dosyaları alınmış ve tüm genom indexi inşa edilmiştir. Araştırma sorusuna uygun olarak farklı gen ekspresyonu araştırıldığı için olduğu için STAR'da 2-pass modu açık kullanılmış, hizalanmış bilginin yer alması için çıkan dosya BAM formatında ve sıralanmış, bir transkriptten kaç adet okuma olduğu --quantMode parametresi ile belirlenmiş, bu işlem sonucunda transkriptlere ait okuma miktarları elde edilmiştir.

3.3.6.3. Count Matrisi ve Diferansiyel Ekspresyon Analizi

STAR çıktısı olarak elde edilen dosyalardan countların yer aldığı 4 sütunluk dosyanın ilk iki sütunu (gen ID'lerin ve her genin kantitatif değerinin herhangi bir okumanın baz alınarak sayılmadığı değerlerin yer aldığı) bir sonraki analiz aşamasında kullanılmıştır. Her bir örnek için ayrı dosya olarak elde edilen countlar birleştirilecek (count matrix) ve örneklerin bilgilerinin yer aldığı (meta data) dosyaları differansiyel gen analizi öncesi hazırlanacaktır. Bu aşamadan sonrası Linux terminalinde değil iDEP'te devam etmiştir. Gruplar arasındaki gen düzeyindeki farklılıkları anlamak için bu web aracı bir R/Bioconductor paketi olan DESeq2'i kullanır; DESeq2 count matrixi ve metadata dosyalarını alarak karşılaştırma yapmıştır. Boyut faktörünü, dağılımı tahmin edilerek ve her genin fit edilmesi GLM (Generalized Linear Model)'a göre yapılmış ve farklı ekspresyon Wald testi ile belirlenmiştir. Fakat normalizasyon öncesi az eksprese olan genler çalışma dışına atılarak istatistiksel gücün artması sağlanmıştır. Örneklerle ait elde edilen istatistiksel anlamlılıklar p-value (<0.05) ve $\log_2$ (Ifold change >1) dikkate alınarak değerlendirilmiş ve listelenmiştir.

3.3.6.4. Fonksiyonel ve Zenginleştirme Analizleri

Anlamalı olarak sınıflandırılan transkriptler aynı web aracı kullanılarak görselleştirilmiştir. Son aşama istatistiksel olarak anlamlı transkriptlerin fonksiyonel analiz aşaması olmuştur. GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) paketi ile GeneOntology’de yer alan Molecular Function, Biological Process, ve Cellular component, KEGG verisetleri ile biyolojik bağlamdaki etkileri incelenmiştir.



4. BULGULAR

4.1 Katılımcıların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışma kapsamında yaş aralığı 18–45 yıl arasında değişen toplam 9 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Hastaların 5'i travmatik, 4'ü dejeneratif menisküs yırtığı grubunda yer almıştır. Travmatik grup daha genç yaş profiline, dejeneratif grup ise daha ileri yaş profiline sahiptir. Katılımcıların genel yaş ortalaması $38,1 \pm 4,2$ yıl olarak belirlenmiştir. Travmatik grupta yaş ortalaması $37,4 \pm 3,5$ yıl, dejeneratif grupta $41,1 \pm 2,1$ yıl olarak hesaplanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Cinsiyet dağılımı açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Katılımcıların %66,7'si kadın, %33,3'ü erkektir. Travmatik grupta kadın oranı %60, dejeneratif grupta %75'tir.

Sigara kullanımı travmatik grupta %40, dejeneratif grupta %50 olarak tespit edilmiş olup, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Beden kitle indeksi (VKI) travmatik grupta $27,9 \pm 3,5$ kg/m², dejeneratif grupta $31,2 \pm 4,1$ kg/m² olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 9. Travmatik ve dejeneratif menisküs yırtığı olan hastaların demografik ve klinik özellikleri

Değişken	Travmatik (n=5)	Dejeneratif (n=4)	Toplam (n=9)	P-değeri
Yaş (yıl, ort $\pm$ SS)	$37,4 \pm 3,5$	$41,1 \pm 2,1$	$38,1 \pm 4,2$	$<0,05$
Cinsiyet (Kadın/Erkek) 3/2		3/1	6/3	$>0,05$
Sigara (+/–)	2/3	2/2	4/5	$>0,05$
VKI (kg/m ² , ort $\pm$ SS)	$27,9 \pm 3,5$	$31,2 \pm 4,1$	$29,8 \pm 4,7$	$>0,05$

4.2. RNA-Seq Veri Kalitesi ve Genel Analiz

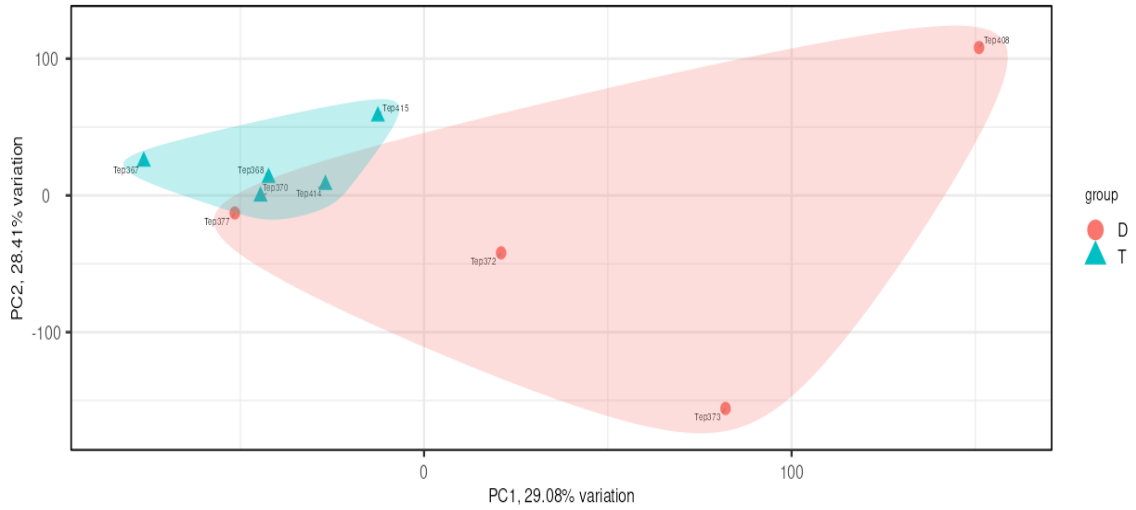
Menisküs dokularından izole edilen tüm RNA örneklerinin RIN değerleri 7,0 ve üzerinde bulunmuştur. Bu durum, örneklerin yüksek bütünlükte ve dizileme analizine uygun olduğunu göstermektedir.

Her bir biyolojik örnek için ortalama yaklaşık 25 milyon ham okuma (raw read) elde edilmiştir. Okuma uzunluğu ortalama 150 baz çifti olup, trimming sonrası artefakt oranı minimal düzeyde kalmıştır.

Hizalama işlemi STAR 2-pass algoritması ile yapılmış ve ortalama hizalanma oranı %94,2 olarak belirlenmiştir. Q30 oranları %95'in üzerinde bulunmuş, bu da dizilenen bazların %99'dan fazlasının hatasız okunduğunu göstermiştir.

Ana Bileşen Analizi (PCA) sonuçları, travmatik ve dejeneratif menisküs grupları arasında belirgin transkriptomik ayrışma olduğunu göstermiştir. PC1 eksenini toplam varyansın %29,08'ini, PC2 eksenini %28,41'ini açıklamıştır. Travmatik örneklerin PCA düzleminde kümелendiği, dejeneratif örneklerin ise daha geniş dağılım gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 16).

Şekil 16. RNA-Seq verilerine dayalı ana bileşen analizi (PCA). Travmatik grup (T, mavi üçgen) ve dejeneratif grup (D, kırmızı daire) örnekleri %95 güven aralığında gösterilmiştir. Her bir nokta bir biyolojik örneği, gölgelendirilmiş alanlar ise grup içi varyasyon sınırlarını temsil etmektedir.



4.3. Diferansiyel Gen Ekspresyonu Analizi

Travmatik ve dejeneratif menisküs örnekleri arasında yapılan diferansiyel gen ekspresyon analizlerinde iki grup arasında anlamlı moleküler farklılıklar saptanmıştır. Analizler STAR ve DESeq2 yazılımları ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar FDR ile düzeltilmiş p-değerleri üzerinden değerlendirilmiştir.

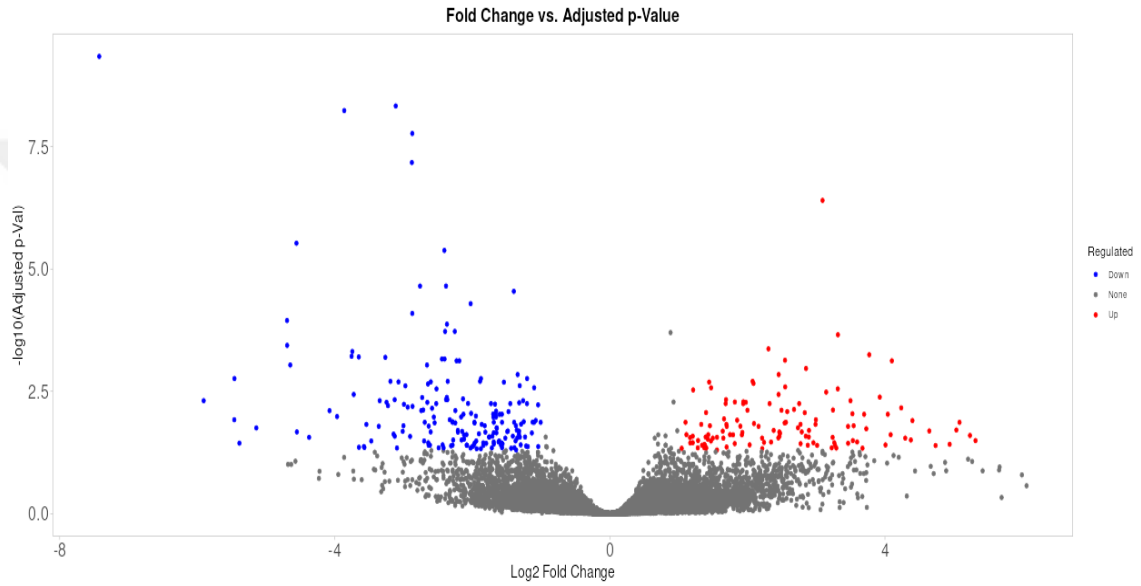
Volkan grafiğinde travmatik grupta ekspresyonu artan genler kırmızı, azalan genler mavi renkle gösterilmiştir. Analiz, iki grup arasında çok sayıda genin anlamlı düzeyde farklı ekspresyon gösterdiğini ortaya koymuştur.

Travmatik menisküslerde akut inflamasyon, hücre iskeleti organizasyonu, doku onarımı ve sitokin aracılı sinyal yollarında görevli genlerde artış görülmüştür. Dejeneratif menisküslerde ise ekstrasellüler matriksin yeniden düzenlenmesi ve enerji metabolizması ile ilişkili bazı genlerin ekspresyon düzeylerinin değiştiği saptanmıştır. Travmatik ve dejeneratif menisküs örnekleri arasında yapılan diferansiyel gen ekspresyon analizlerinde

iki grup arasında anlamlı moleküler farklılıklar saptanmıştır. Analizler STAR ve DESeq2 yazılımları ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar FDR ile düzeltilmiş p-değerleri üzerinden değerlendirilmiştir.

Volkan grafiğinde travmatik grupta ekspresyonu artan genler kırmızı, azalan genler mavi renkle gösterilmiştir. Analiz, iki grup arasında çok sayıda genin anlamlı düzeyde farklı ekspresyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 17).

Şekil 17. Travmatik ve dejeneratif örneklerde diferansiyel gen ekspresyon dağılımını gösteren volkan grafiği. Kırmızı noktalar anlamlı artış gösteren, mavi noktalar anlamlı azalma gösteren genleri temsil etmektedir.



4.4. Kollajen Gen Ailesi Ekspresyon Bulguları

Kollajen gen ailesine ait transkriptlerin travmatik ve dejeneratif menisküs örnekleri arasında farklı ekspresyon düzeyleri gösterdiği belirlenmiştir.

Toplam 10 farklı COL geninde (*COL13A1*, *COL14A1*, *COL15A1*, *COL21A1*, *COL5A1-AS1*, *COL26A1*, *COL11A1*, *COL3A1*, *COL12A1* ve *COL5A1*) anlamlı veya anlamlılığa yakın ekspresyon farklılıkları saptanmıştır (Tablo 10).

Travmatik grupta *COL14A1*, *COL21A1* ve *COL12A1* genlerinin ekspresyonu artmış; *COL13A1*, *COL15A1*, *COL5A1-AS1*, *COL26A1*, *COL11A1*, *COL3A1* ve *COL5A1* genlerinin ekspresyonu azalmıştır.

Tablo 10. Travmatik vs Dejeneratif Menisküs Örneklerinde Kolajen Genlerinin Ekspresyon Değişimi

Gen	adj. p	Log2FC (Travmatik / Dejeneratif)	Travmatikteki Değişim	Dejeneratifte Durum	Yaklaşık Kat Değişimi	Açıklama
COL13A1	0.0022	-2.64	Azalmış	Artmış	≈6.2 kat	Dejeneratifte belirgin artış
COL14A1	0.0076	3.24	Artmış	Azalmış	≈9.4 kat	Travmatikte yüksek ekspresyon, dejeneratifte azalmış
COL15A1	0.0208	-2.14	Azalmış	Artmış	≈4.4 kat	Dejeneratifte anlamlı artış
COL21A1	0.0283	2.44	Artmış	Azalmış	≈5.4 kat	Travmatikte artmış, dejeneratifte azalmış
COL5A1-AS1	0.0328	-1.94	Azalmış	Artmış	≈3.8 kat	Dejeneratifte artış
COL26A1	0.0806	-2.69	Azalmış	Artış eğilimi	≈6.5 kat	Dejeneratifte artış eğilimi
COL11A1	0.102	-1.63	Azalmış	Artış eğilimi	≈3.1 kat	Dejeneratifte artış eğilimi
COL3A1	0.247	-1.25	Azalmış	Artış eğilimi	≈2.4 kat	Dejeneratifte artış eğilimi
COL12A1	0.254	1.25	Artmış	Azalmış	≈2.4 kat	Travmatikte artmış, dejeneratifte azalmış
COL5A1	0.316	-1.22	Azalmış	Artış eğilimi	≈2.3 kat	Dejeneratifte artış eğilimi

Dejeneratif grupta *COL13A1*, *COL15A1*, *COL5A1-AS1*, *COL26A1*, *COL11A1*, *COL3A1* ve *COL5A* genlerinin ekspresyonu artmış; *COL14A1*, *COL21A1* ve *COL12A1* genlerinin ekspresyonu azalmıştır.

Travmatik ve dejeneratif menisküs dokularında kollajen ailesi genlerinin istatistiksel olarak anlamlı olanlarında;

COL13A1 geni travmatik grupta azalmış, dejeneratif grupta artmıştır. *COL14A1* ve *COL21A1* genlerinde travmatik grupta artış saptanmıştır. *COL15A1* ve

COL5A1-AS1 genlerinde travmatik grupta azalma, dejeneratif grupta artış eğilimi belirlenmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. Travmatik ve dejeneratif menisküs dokularında kollajen ailesi genlerinin ifade farklılıkları

Gen	Adjusted p-değeri	Log2FC	Yorum
COL13A1	0.0022	-2.64	Travmatik grupta azalma
COL14A1	0.0076	+3.24	Travmatik grupta artış
COL21A1	0.0283	+2.44	Travmatik grupta artış
COL15A1	0.0208	-2.14	Travmatik grupta azalma
COL5A1-AS1	0.0327	-1.94	Travmatik grupta azalma

4.5. Gen Seti Zenginleştirme (GSEA) Bulguları

Travmatik ve dejeneratif menisküs örnekleri arasındaki diferansiyel gen ekspresyonu sonuçlarına göre yapılan GSEA analizinde, bazı hücresel bileşen ve biyolojik yollarda anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir.

Tablo 12. Travmatik (T) ve dejeneratif (D) doku örneklerinde anlamlı düzeyde değişiklik gösteren GSEA yolları

Yön	Yolak Adı	adj.Pval
Down	Cornified Envelope	1.9×10^{-2}
Up	External Side of Plasma Membrane	1.7×10^{-5}
Up	Nucleosome	3.8×10^{-4}
Up	Clathrin-Coated Endocytic Vesicle Membrane	8.0×10^{-3}
Up	Postsynaptic Membrane	8.0×10^{-3}

Travmatik örneklerde “External Side of Plasma Membrane”, “Nucleosome”, “Clathrin-Coated Endocytic Vesicle Membrane” ve “Postsynaptic Membrane” bileşenleri anlamlı düzeyde zenginleşmiştir.

Dejeneratif örneklerde ise “Cornified Envelope” yolu anlamlı düzeyde baskılanmıştır.

4.6. Genel Değerlendirme

Elde edilen sonuçlar, travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıklarının moleküler, biyokimyasal ve genetik düzeyde farklı profiller sergilediğini göstermektedir. Travmatik menisküslerde akut yanıt, ECM yeniden yapılanması ve hücre iskeleti organizasyonu ile ilişkili genlerde artış gözlenmiştir. Dejeneratif menisküslerde ise bazı kollajen genlerinin göreceli olarak yüksek düzeyde korunmasına karşın enerji metabolizması, oksidatif stres yanıtı ve transkripsiyonel düzenleme mekanizmalarında bozulma saptanmıştır.

Bu bulgular, travmatik ve dejeneratif menisküs dokularının farklı biyolojik süreçler tarafından yönetildiğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Pihlajaniemi ve ark.'nın transmembran ve non-fibriller kollajen ailesine yönelik tanımlamaları, çalışmamızda saptadığımız moleküler profili destekleyen önemli bir teorik çerçeve sunmaktadır (94). Bu araştırma grubunun Tip XIII ve Tip XV kollajenlerin fibril sisteminin “çevresel organizasyon bileşenleri” olarak hücre–matriks ara yüzünde adezyon, bazal membran stabilitesi ve matriks mikro-mimarisi koordinasyonunda kritik rol üstlendiğini göstermesi dikkat çekicidir. Çalışmamızda hem *COL13A1* hem *COL15A1* transkript seviyelerinin dejeneratif menisküs dokularında daha yüksek bulunması, bu iki non-fibriller kollajen ailesinin kronik süreçte bazal membran – fibriller matriks arabirimi stabilitesini sürdürmeye yönelik kompensatuvar bir ifade patterni geliştirdiğini düşündürmektedir. Buna karşılık travmatik fazda bu genlerin daha düşük kalması, akut mekanik yük sonrası membran–ECM stabilizasyonunun henüz aktif olarak yeniden inşa edilmediği “erken instabilite penceresi” ile uyumludur.

Pihlajaniemi ve ark. Tip XIII kollajenin MACIT grubunda yer aldığını ve integrin aracılı hücre–ECM temaslarının hem membran düzeyinde hem fibril çevresinde multi-eksenli biçimde organize edilmesine katkıda bulunduğunu bildirmektedir (94). Bu bilgi çalışmamızdaki *COL13A1* yönelimiyle uyumlu bir biyolojik açıklama sunmaktadır: dejeneratif fazda *COL13A1* düzeyinin yüksek olması, zaman içinde ilerleyen ECM bozulmasını kompanse etmeye çalışan gecikmiş stabilizasyon baskısı ile ilişkili olabilir. Travmatik fazda *COL13A1* seviyesinin düşük olması ise henüz akut hasar sonrasında ara yüz bütünlüğünün yeniden kurulamamış olmasını ve yapısal adezyon köprülerinin erken dönemde zayıf kaldığını düşündürmektedir.

Tip XV kollajen ise Pihlajaniemi'nin sınıflandırmasında “multiplexin” ailesi içinde konumlanmaktadır ve kapiller mikro-çevrede bazal membran stabilitesinin korunmasında önemli rol oynamaktadır (94). Çalışmamızda *COL15A1*'in dejeneratif fazda yüksek bulunması, ECM bozulmasına rağmen mikro-damarlanma platformunun kronik perfüzyon destabilizasyonunu dengelemeye dönük gecikmiş bir kompensatuvar adaptasyon geliştirdiğini düşündürmektedir. Buna karşılık travmatik örneklerde *COL15A1* seviyesinin düşük olması, akut dönemde mikrovasküler destek matrisinin henüz reorganize edilmemiş olduğunu; yani sistemin “hâlâ akut onarım başlamadan önceki dengesizlik evresinde” olduğunu düşündürmektedir.

Pihlajaniemi ve ark.'nın ortaya koyduğu biçimsel–fonksiyonel ayrım, çalışmamızda *COL13A1* ve *COL15A1*'de gözlenen yönelimleri desteklemektedir. Dejeneratif fazda iki genin de artmış olması ECM arabirimini sürdürmeye yönelik geç dönem yanıt; travmatik fazda düşük seviyede olmaları ise akut dönemde membran ve mikrovasküler ara yüzün henüz yeniden organize edilmediğini göstermektedir. Bu durum, non-fibriller kollajenlerin travmatik süreçte “erken instabilite / düşük organizasyon”, dejeneratif süreçte ise “gecikmiş kompensasyon / koruma baskısı” şeklinde iki farklı biyolojik yansıma sergilediğini düşündürmektedir.

Häreonen ve ark. tarafından yapılan deneysel çalışmada, *COL13A1* geninin nöromüsküler kavşakta hücre–matriks bütünlüğünü ve sinaptik stabiliteyi sağladığı, ayrıca transmembran formunun presinaptik ve postsinaptik yapılar arasındaki adezyonun korunmasında temel rol oynadığı gösterilmiştir (95). *COL13A1* eksikliğinde adezyon kaybı, sinaptik bütünlük bozulması ve dejeneratif değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu bulgular, *COL13A1*'in dokusal stabilite ve hücre–matriks etkileşimi üzerindeki koruyucu rolünü desteklemektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL13A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında göreceli olarak arttığı tespit edilmiştir. Travmatik grupta saptanan *COL13A1* azalması, akut yaralanma sonrası hücre–ECM bağlantılarının zayıfladığını ve ECM yeniden yapılanmasının erken fazında stabilite kaybı yaşandığını göstermektedir. Buna karşılık, dejeneratif menisküslerde *COL13A1* ekspresyonunun artmış olması, uzun süreli mikromekanik stres altında doku bütünlüğünü korumaya yönelik kompensatuvar bir yeniden yapılanma yanıtını yansıtmaktadır.

Bu durum, *COL13A1*'in kronik süreçte ECM homeostazını sürdürme ve hücre–matriks etkileşimini destekleme yönünde aktive edildiğini; ancak bu artışın fonksiyonel düzeyde tam onarım sağlayacak etkinliğe ulaşamadığını düşündürmektedir.

Häreonen ve ark. tarafından oluşturulan *COL13A1* eksikliği bulunan fare modeli, adezyon kaybı, sinaptik bütünlük bozulması ve dejeneratif değişiklikler ile karakterize edilmiştir (95). Bu modelde gözlenen dokusal bozulma, bizim çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL13A1* ekspresyonunun azalmasıyla birlikte kollajen yapısal genlerinde genel bir düşüş eğiliminin saptanmasıyla benzer biyolojik bir yönelim sergilemektedir. Buna karşın dejeneratif menisküslerde *COL13A1*'in artışı, ECM

bileşenlerinin kaybolan mekanik stabiliteyi telafi etmeye yönelik bir düzenleme sürecine girdiğini göstermektedir.

Özellikle Häreonen ve ark. tarafından vurgulanan transmembran formdaki *COL13A1*'in sinaptik stabilizasyonu artırıcı etkisi, menisküs gibi yüksek mekanik strese maruz kalan dokularda bu genin mekanik sinyalleri hücre sel yanıtlarla ilişkilendirme ve matriks organizasyonunu sürdürme süreçlerinde kritik rol oynayabileceğini düşündürmektedir (95). Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL13A1* ekspresyonunun azalması, bu proteinin akut fazda hücre iskeleti–ECM bağlantılarındaki zayıflamanın bir göstergesi iken; dejeneratif menisküslerdeki artışı, kronik dönemde ECM stabilitesini korumaya yönelik kompensatuvar bir aktivasyon olarak değerlendirilebilir.

Ayrıca, Häreonen ve ark.'nın çalışmasında *COL13A1* eksikliğinde gözlenen kas atrofisi ve hücre sel adezyon kaybı, bizim dejeneratif menisküs örneklerinde gözlenen ECM zayıflaması ve bağ dokusu bütünlüğündeki bozulma ile paralellik göstermektedir. Dolayısıyla, *COL13A1* geninin hem nöromusküler hem de fibrokondrositik dokularda hücre dışı matriks bütünlüğünün korunmasında temel bir düzenleyici olduğu anlaşılmaktadır (95).

Häreonen ve ark.'nın bulguları *COL13A1* kaybının dokusal bütünlüğü bozduğunu göstermekte; çalışmamızda travmatik menisküslerde saptanan azalma ve dejeneratif menisküslerde gözlenen artış birlikte değerlendirildiğinde, *COL13A1*'in menisküs dokusunda hem hasar sonrası erken faz iyileşmede hem de kronik yeniden yapılanma süreçlerinde kilit bir moleküler aracıyı temsil ettiği sonucuna varılabilir. Bu durum, menisküs iyileşmesinde hücre–matriks etkileşimlerinin ve *COL13A1* regülasyonunun doku onarım kapasitesini belirleyen önemli biyolojik faktörler arasında yer aldığını desteklemektedir.

Ansorge ve ark. tarafından gerçekleştirilen deneysel çalışmada, *COL14A1* geninin eksikliği durumunda tendon dokularında erken dönemde düzensiz fibril organizasyonu, artmış fibril çapı ve azalmış mekanik dayanıklılık gözlemlenmiştir (96). Araştırmacılar, *COL14A1*'in fibril yüzeyine bağlanarak fibrillogenesis sürecinde düzenleyici rol oynadığını ve dokusal dayanıklılığın korunmasında önemli bir katkı sağladığını bildirmişlerdir. Bu bulgular, *COL14A1*'in hücre dışı matriks yapısının stabilizasyonu ve

kollajen fibrillerin düzgün yerleşiminde temel bir düzenleyici olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL14A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde arttığı, buna karşılık dejeneratif menisküs dokularında azaldığı saptanmıştır. Bu durum, travmatik menisküslerde *COL14A1* artışının, fibrillogenez sürecinin yeniden düzenlenmesine ve doku dayanıklılığının korunmasına yönelik kompensatuvar bir yanıt olduğunu düşündürmektedir.

Ansorge ve ark. ayrıca tip XIV kollajenin fibril yüzeyinde lokalize olduğunu ve fibril büyüme evrelerini düzenlediğini göstermiştir (96). Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL14A1* artışı, muhtemelen yaralanma sonrası erken onarım fazında kollajen fibrillerin düzgün yönlenmesini ve uygun çapta gelişimini destekleyici bir etkiye işaret etmektedir. Bu yönüyle, *COL14A1* 'in fibrillogenezde dengeleyici bir faktör olarak görev aldığı ve aşırı ya da düzensiz fibril büyümesini sınırladığı söylenebilir.

Buna karşın dejeneratif menisküs dokularında *COL14A1* ekspresyonundaki azalma, kronik mikromekanik stres altında ECM yeniden yapılanma kapasitesinin azaldığını ve fibril organizasyonundaki düzenleyici mekanizmaların bozulduğunu göstermektedir. Bu durum, uzun süreli yıpranma sürecinde fibril kalınlığı, yönlenmesi ve çap dağılımının kontrolsüz hale gelmesine, dolayısıyla doku dayanıklılığında azalmaya yol açabilecek bir biyolojik tabloyu yansıtmaktadır.

Ansorge ve ark.'nın çalışmasında tip XIV kollajen eksikliğinde prematür fibril büyümesi ve mekanik dayanıklılığın azalması rapor edilmiştir (96). Çalışmamızda travmatik gruptaki *COL14A1* artışı bu tabloya karşı gelişen koruyucu bir biyolojik adaptasyon olarak değerlendirilirken, dejeneratif gruptaki azalma benzer mekanizmaların zaman içinde yetersiz hale geldiğini ve doku stabilitesinin geri kazanılamadığını göstermektedir.

Ansorge ve ark.'nın bulguları bizim çalışmamızdaki sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde, *COL14A1* geninin menisküs dokusunda fibril organizasyonu, mekanik stabilite ve ECM bütünlüğünün korunmasında kritik bir düzenleyici rol üstlendiği anlaşılmaktadır. Travmatik menisküslerdeki artış, erken onarım ve yeniden yapılanma sürecini destekleyen kompensatuvar bir yanıtı, dejeneratif menisküslerdeki azalma ise kronik süreçte kaybolan yeniden yapılanma kapasitesini temsil etmektedir.

Tao ve ark. tarafından yapılan deneysel çalışmada, *COL14A1* eksikliğinin kalp dokusunda ECM bütünlüğünü bozduğu, fibril organizasyonunda düzensizlik, kompakt miyokardiyumda disorganizasyon ve mekanik dayanıklılığın azalması gibi sonuçlara yol açtığı bildirilmiştir (97). Araştırmacılar, *COL14A1*'in fibril yüzeyine bağlanarak ECM yapısının düzenlenmesi, fibriller arası bağlantıların stabilizasyonu ve dokusal dayanıklılığın sürdürülmesinde kritik rol oynadığını vurgulamışlardır. Bu bulgular, *COL14A1*'in yüksek mekanik yüke maruz kalan dokularda, özellikle de fibröz yapıların bütünlüğünü korumada önemli bir yapısal düzenleyici olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL14A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde arttığı, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında azaldığı gözlenmiştir. Travmatik süreçte saptanan *COL14A1* artışı, doku bütünlüğünü korumaya ve ECM'nin mekanik stabilitesini yeniden tesis etmeye yönelik kompensatuvar bir yanıt olarak değerlendirilebilir. Buna karşın, dejeneratif menisküslerde *COL14A1* ekspresyonundaki azalma, uzun süreli mikromekanik stres ve kronik ECM yıkımı sonucunda yeniden yapılanma kapasitesinin azaldığını düşündürmektedir.

Tao ve ark. ayrıca, *COL14A1* eksikliğinde *COL1A1*, *COL3A1* ve *COL27A1* gibi fibriller kollajenlerin transkript düzeylerinde belirgin artışlar gözlemlemiş, buna karşın fibril organizasyonunun bozulduğunu ve kollajen liflerinin yapısal olarak düzensiz hale geldiğini rapor etmiştir (97). Bu bulgu, bizim travmatik menisküs örneklerinde saptadığımız *COL14A1* artışıyla birlikte ECM yeniden yapılanmasının kontrollü biçimde sürdüğünü, dejeneratif menisküslerdeki azalmanın ise bu düzenleyici mekanizmaların etkinliğini kaybettiğini göstermektedir. Yani, travmatik süreçte *COL14A1* artışı fibrillogenesis sürecinin düzenlenmesi ve kollajen liflerinin düzgün hizalanması açısından koruyucu bir rol üstlenirken, dejeneratif süreçteki azalma bu kontrolün kaybına ve fibril organizasyonunun bozulmasına neden olmaktadır.

Tao ve ark.'nın çalışmasında dikkat çekici bir diğer bulgu, *COL14A1* eksikliğinde fibroblast sayısının azaldığı, apoptoz oranlarının arttığı ve ECM sentezinin zayıfladığı yönündedir (97). Bu bulgu, bizim travmatik menisküslerde ECM yeniden yapılanmasının artması ve fibroblast aktivitesinin güçlenmesi, buna karşın dejeneratif menisküslerde hücrel proliferasyon ve ECM sentezinin azalması ile uyumludur. Çalışmamızda travmatik grupta *COL14A1* artışı, fibroblast kaynaklı ECM sentezini ve doku tamirini

destekleyen bir biyolojik yanıtı temsil ederken; dejeneratif gruptaki azalma, hücre dışı matriksin rejeneratif kapasitesinin tükenmesini yansıtmaktadır.

Ayrıca, Tao ve ark. tarafından *COL14A1* eksikliğinde *MMP2*, *MMP9*, *TIMP2* ve *TIMP3* gibi matriks yeniden şekillendirme genlerinde dengesizlikler olduğu bildirilmiştir (97). Bu da *COL14A1*'in yalnızca yapısal bir kollajen değil, aynı zamanda matriks remodelingi üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiğini kanıtlamaktadır. Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL14A1*'in artışı, muhtemelen *MMP/TIMP* dengesini koruyarak ECM stabilizasyonunu güçlendirmekte ve doku onarım sürecini desteklemektedir. Buna karşın, dejeneratif menisküslerde *COL14A1*'in azalması, bu dengenin bozulduğunu ve ECM yıkımının yeniden yapılanmadan baskın hale geldiğini göstermektedir.

Tao ve ark.'nın bulguları, çalışmamızda travmatik menisküslerde saptanan *COL14A1* gen artışının doku bütünlüğünü korumaya ve mekanik dayanıklılığı artırmaya yönelik fizyolojik bir yanıt olduğunu güçlü biçimde desteklemektedir. Buna karşın, dejeneratif menisküslerdeki azalma, kronik süreçte ECM disorganizasyonunun ilerlemesi, fibroblast aktivitesinin azalması ve onarım kapasitesinin düşmesi ile ilişkilidir. Bu durum, *COL14A1*'in farklı doku tiplerinde ortak bir ECM düzenleyici rolü bulunduğunu, ancak travmatik süreçte koruyucu bir yanıt olarak aktive olurken, dejeneratif süreçte bu düzenleyici etkinliğin azaldığını göstermektedir.

Nizamoglu ve ark. tarafından yapılan çalışmada, idiopatik pulmoner fibrozis (IPF) hastalarının akciğer dokularında *COL14A1* proteininin anlamlı biçimde azaldığı, bu azalmanın ECM organizasyonunun bozulması ve kollajen fibrillerin düzensiz hale gelmesiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (98). Araştırmacılar, *COL14A1*'in bağ dokusunda fibril organizasyonunu düzenleyen ve doku bütünlüğünü sürdüren önemli bir yapısal bileşen olduğunu vurgulamışlardır. Bu bulgular, *COL14A1*'in farklı dokularda benzer şekilde ECM stabilitesini korumada rol oynadığını göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL14A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde artış gösterdiği, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında azaldığı gözlenmiştir. Bu durum, benzer ECM bileşenlerine sahip olmasına rağmen travmatik menisküslerde *COL14A1* artışının, doku onarım sürecine özgü kompensatuvar bir yanıt olduğunu düşündürmektedir.

Nizamoglu ve ark., IPF örneklerinde *COL14A1* proteininin parankim, bronşiyal epitel ve hava yolu duvarı bölgelerinde belirgin biçimde azaldığını, buna rağmen fibroblast ve miyofibroblast hücrelerinde *COL14A1* mRNA düzeylerinin arttığını göstermiştir (98). Bu transkript–protein düzeyi uyumsuzluğu, ECM’ye dahil olmuş proteinlerin mRNA düzeylerinden bağımsız olarak regüle edilebileceğini göstermektedir (98). Bizim çalışmamızda da benzer biçimde, travmatik menisküslerde *COL14A1* ekspresyonundaki artış, yeni ECM sentezinin ve fibril yeniden organizasyonunun artmasıyla ilişkili görünmektedir. Buna karşın, dejeneratif menisküslerde *COL14A1* düzeyinin azalması, kronik süreçte ECM yenilenmesinin yavaşladığını ve protein düzeyinde yapısal stabilitenin kaybolduğunu düşündürmektedir.

Nizamoglu ve ark.’nın çalışmasında ayrıca *COL14A1/COL1* oranının IPF dokularında belirgin biçimde azaldığı rapor edilmiştir (98). Bu bulgu, *COL14A1*’in fibriller kollajenlerle birlikte ECM stabilitesini düzenlediğini ve bu dengenin bozulmasının fibril disorganizasyonu ve artmış doku sertliği ile sonuçlandığını göstermektedir (98). Bizim çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL14A1* artışı, bu bağlamda fibriller kollajenlerin kontrollü biçimde organize olmasını sağlayan bir düzenleyici yanıt olarak değerlendirilebilir. Özellikle travmaya yanıt olarak ECM’nin yeniden modellenmesi sırasında *COL14A1*’in fazla ekspresyonu, fibril kalınlığını ve yönelimini düzenleyerek doku dayanıklılığının korunmasına katkı sağlamaktadır. Buna karşın, dejeneratif menisküslerdeki *COL14A1* azalması, kronik ECM disorganizasyonu ve mekanik zayıflıkla uyumlu görünmektedir.

Nizamoglu ve ark.’nın IPF dokularında saptadığı *COL14A1* azalmasının fibrotik disorganizasyonla, bizim çalışmamızda *COL14A1* artışının ECM yeniden yapılanması ve mekanik stabilitenin korunmasıyla ilişkili olması, bu genin dokuya özgü farklı regülasyon mekanizmalarına sahip olduğunu göstermektedir (98). Travmatik menisküslerde *COL14A1* artışı, akut onarım sürecinde ECM bütünlüğünü yeniden sağlama ve matriks stabilitesini güçlendirme yönünde bir yanıt olarak yorumlanırken, dejeneratif menisküslerdeki azalma, kronik ECM dejenerasyonu ve yeniden yapılanma yetersizliğinin göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Izu ve Birk tarafından yapılan çalışmada, *COL12A1* geninin fibril oluşumu, hücreler arası iletişim ve rejenerasyon süreçlerinde çift yönlü rol oynadığı hem hücresel davranışları düzenleyen hem de ECM organizasyonunu kontrol eden bir protein olarak

işlev gördüğü bildirilmiştir (99). Araştırmacılar, *COL12A1*'in fibriller kollajenlerin düzgün aralıkta dizilimini sağlayarak ECM'nin mekanik stabilitesini desteklediğini ve yük taşıma sırasında oluşan mekanik uyarılara yanıt olarak ekspresyonunun arttığını vurgulamışlardır (99). Bu bulgular, *COL12A1*'in doku dayanıklılığının korunmasında ve rejeneratif süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL12A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde artmış, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında azalmış olduğu tespit edilmiştir. Travmatik menisküslerde saptanan bu artış, Izu ve Birk'in belirttiği mekanik strese yanıt olarak uyarılan ECM yeniden yapılanma süreciyle uyumlu bir yönelim sergilemektedir.

Izu ve Birk ayrıca, *COL12A1*'in tip I kollajen fibrilleriyle etkileşerek fibril aralıklarını düzenlediğini, ECM'nin mekanik özelliklerini ve doku dayanıklılığını optimize ettiğini belirtmiştir (99). Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL12A1* artışı, muhtemelen fibrillerin düzgün dizilimi, kollajen lifleri arasındaki köprülerin güçlenmesi ve mekanik yükün homojen dağılması yönünde gelişen bir yanıtı temsil etmektedir. Bu yönüyle, menisküs dokusunun yük taşıyıcı ve basınca dayanıklı yapısında *COL12A1* artışı, ECM'nin yeniden yapılanmasını kolaylaştırarak biyomekanik dengeyi yeniden kurma sürecine katkı sağlamaktadır.

Bununla birlikte, Izu ve Birk çalışmasında *COL12A1*'in yalnızca fibriller arası bir yapısal bağlayıcı değil, aynı zamanda hücre-hücre iletişimini sağlayan kollajen köprüleri oluşturduğu da gösterilmiştir (99). Bu köprülerin osteoblastlar, tenositler ve diğer fibroblastik hücreler arasında fiziksel bağlantılar kurarak hücre polarizasyonunu, yönelimini ve diferansiyasyon kapasitesini düzenlediği ifade edilmiştir (99). Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL12A1* artışı, benzer biçimde fibrokondrositler arasındaki hücresel koordinasyonu ve ECM yeniden yapılanmasını destekleyen bir mekanizma olarak değerlendirilebilir. Buna karşın dejeneratif menisküslerde *COL12A1* ekspresyonunun azalması, bu hücresel köprüleme fonksiyonlarının zayıfladığını ve ECM-hücre etkileşimlerinin bozulduğunu düşündürmektedir.

Izu ve Birk ayrıca, *COL12A1*'in TGF- β ve Wnt/ β -catenin sinyal yolları ile etkileşim içinde olduğunu ve bu yollar aracılığıyla rejenerasyon sürecinde dinamik biçimde regüle edildiğini vurgulamıştır (99). Bu bulgu, *COL12A1*'in yalnızca yapısal bir

ECM yanıtı değil, aynı zamanda biyosinyal ağlarının yeniden düzenlenmesinde de kritik bir rol üstlendiğini göstermektedir. Buna karşılık, dejeneratif menisküslerdeki *COL12A1* azalması, TGF- β ve Wnt sinyalleme ekseninin yetersiz aktivasyonu nedeniyle rejeneratif kapasitenin azaldığını düşündürmektedir.

Izu ve Birk'in bulguları, çalışmamızda travmatik menisküs dokularında gözlenen *COL12A1* artışının hem ECM fibril organizasyonu hem de hücrel iletişim açısından rejeneratif bir adaptasyon yanıtı olduğunu güçlü biçimde desteklemektedir (99). Buna karşın, dejeneratif menisküslerde *COL12A1* ekspresyonundaki azalma, ECM bütünlüğünün zayıflaması, hücrel bağlantıların bozulması ve mekanik dayanıklılığın azalmasıyla ilişkilidir (99). *COL12A1*'in bu çift yönlü fonksiyonu hem mekanik stabiliteyi artıran ECM regülatörü, hem de hücre davranışlarını yönlendiren köprü proteini olarak menisküs onarım ve dejenerasyon süreçlerinde anahtar bir moleküler rol üstlendiğini göstermektedir.

Sun ve ark. tarafından osteoartrit patogeneze yönelik olarak yapılan çalışmada, uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA) ECM yeniden yapılanması, inflamatuvar yanıt ve kondrositik metabolizmanın düzenlenmesi üzerinde önemli etkiler gösterdiği bildirilmiştir (100). Araştırmacılar, bazı lncRNA'ların ECM sentezini desteklerken, bazılarının katabolik gen ekspresyonunu artırarak ECM bozulmasına neden olabildiğini belirtmiştir (100). Bu bulgular, lncRNA'ların doku homeostazında çift yönlü düzenleyici işlev üstlendiğini ve dejeneratif süreçlerde fibrotik yeniden yapılanmayı etkileyebildiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL5A1-AS1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında arttığı saptanmıştır. Dejeneratif menisküslerde *COL5A1-AS1* artışı, kronik inflamasyon ve fibrotik yeniden yapılanma sürecine eşlik eden bir transkripsiyonel adaptasyon olarak değerlendirilebilir.

Sun ve ark.'nın çalışmasında, lncRNA'ların TGF- β /SMAD ve Wnt/ β -catenin sinyal yolları gibi temel moleküler eksenleri modüle ettiği, bu sayede kondrosit fonksiyonları, hücrel stres yanıtı ve matriks bütünlüğü üzerinde etkili oldukları gösterilmiştir (100). Bu bilgiler ışığında, dejeneratif menisküslerde *COL5A1-AS1* ekspresyonundaki artış, TGF- β aracılı fibrotik gen setlerinin aktivasyonunu ve ECM

yeniden yapılanmasının kompensatuvar şekilde uyarıldığını düşündürmektedir. Buna karşın, travmatik menisküslerde *COL5A1-ASI* ekspresyonunun azalması, akut doku hasarı sonrası erken fazda katabolik süreçlerin baskın olduğunu ve ECM yeniden yapılanmasının henüz etkinleşmediğini düşündürmektedir.

Sun ve ark.'nın bulguları, çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL5A1-ASI* azalmasının akut hasar fazında baskılanmış bir transkripsiyonel yanıtı, dejeneratif menisküslerdeki artışın ise kronik ECM yeniden yapılanması ve fibrotik aktivasyonla ilişkili bir süreci temsil ettiğini göstermektedir (100). Bu durum, *COL5A1-ASI*'in menisküs dokusunda rejeneratif ve fibrotik yanıtların epigenetik düzeyde dengelenmesinde önemli bir düzenleyici rol oynadığını düşündürmektedir.

Wang ve ark. tarafından osteoartrit patogeneze yönelik olarak yapılan kapsamlı derlemede, lncRNA'ların kıkırdak ve menisküs dokusunda ECM yeniden yapılanması, inflamatuvar yanıt ve hücrel stres adaptasyonu gibi süreçlerde önemli düzenleyici roller üstlendiği bildirilmiştir (101). Araştırmacılar, belirli lncRNA'ların ECM sentezini destekleyerek doku bütünlüğünü koruduğunu, bazılarının ise katabolik gen ekspresyonunu artırarak ECM bozulmasını hızlandırabileceğini vurgulamışlardır (101). Bu bulgular, lncRNA'ların menisküs ve kıkırdak dokularında homeostazın korunması ile dejeneratif süreçlerin ilerlemesi arasında çift yönlü bir düzenleyici denge sağladığını göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL5A1-ASI* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı, buna karşın dejeneratif menisküs dokularında arttığı saptanmıştır. Bu genel yönelim, Wang ve ark.'nın belirttiği üzere, ECM yeniden yapılanması ve inflamatuvar süreçlerin lncRNA aracılığıyla transkripsiyonel düzeyde düzenlendiğini destekler niteliktedir.

Wang ve ark., osteoartritin yalnızca kıkırdak yıkımıyla sınırlı olmadığını, sinovyum, subkondral kemik ve menisküs gibi eklem bileşenlerinde lncRNA'ların transkripsiyonel yeniden programlama süreçlerini yönlendirdiğini bildirmiştir (101). Bu bağlamda, çalışmamızda dejeneratif menisküslerde *COL5A1-ASI* artışı, kronik inflamasyon ve fibrotik ECM yeniden yapılanmasına eşlik eden bir transkripsiyonel adaptasyon olarak değerlendirilebilir. Buna karşın, travmatik menisküslerde *COL5A1-ASI* azalması, akut hasar sonrası erken dönemde katabolik süreçlerin baskın olduğunu ve ECM yeniden yapılanmasının henüz etkinleşmediğini göstermektedir.

Wang ve ark., farklı çalışmaların lncRNA'ların menisküs dokusunda sinyal ağlarının yeniden düzenlenmesine katkı sağladığını ve bu moleküllerin TGF- β , NF- κ B ve MAPK gibi sinyal yollarını modüle ederek hücrel stres yanıtını dengelediğini belirtmiştir (101). Bu literatür bilgileriyle uyumlu olarak, *COL5A1-ASI* ekspresyonundaki dejeneratif artış, TGF- β aracılı fibrotik gen setlerinin aktivasyonu ve ECM yeniden yapılanmasının kompensatuvar biçimde uyarılması ile ilişkilendirilebilir.

Wang ve ark.'nın bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, *COL5A1-ASI* lncRNA'sının menisküs dokusunda ECM yeniden yapılanması, inflamatuvar yanıt ve rejeneratif süreçlerin epigenetik düzeyde düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı anlaşılmaktadır (101). Travmatik menisküslerde *COL5A1-ASI* azalması, akut hasar fazında onarım genlerinin erken baskılanmasını, dejeneratif menisküslerdeki artışı ise kronik fibrotik adaptasyonu temsil etmektedir. Bu sonuçlar, *COL5A1-ASI*'in menisküs dejenerasyonu ve onarım süreçlerinde potansiyel bir epigenetik düzenleyici ve biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Fung ve ark. tarafından tendon dokusu üzerinde yapılan çalışmada, *COL12A1* geninin ECM organizasyonu ve mekanik dayanıklılık üzerindeki düzenleyici etkileri ortaya konmuştur (102). Araştırmacılar, tendon spesifik *COL12A1* silinmesinin ECM düzenlenmesini bozduğunu, fibril organizasyonunun düzensizleşmesine ve dokunun mekanik dayanıklılığının azalmasına yol açtığını bildirmiştir (102). Bu sonuçlar, kolajen XII'nin fibriller organizasyonun korunmasında ve dokunun mekanik yüklenmeye uyum sağlayabilmesinde kritik bir yapısal bileşen olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL12A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde artmış, buna karşılık dejeneratif menisküs dokularında azalmış olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, Fung ve ark.'nın tendon dokusunda ortaya koyduğu kolajen XII biyolojisi ile mekanik açıdan tutarlı bir paralellik göstermektedir.

Çalışmamızdaki travmatik menisküs dokularında *COL12A1* gen ekspresyonunun artmış olması, akut doku hasarı sonrasında ECM yapısının yeniden düzenlenmesine yönelik kompensatuvar bir biyolojik yanıt olarak değerlendirilebilir. Tendon dokusunda eksikliği mekanik zayıflığa neden olan bu protein, menisküs travmasında ters yönde artmış ekspresyon üzerinden doku stabilitesinin yeniden tesis edilmesini destekleyen bir rol oynuyor olabilir. Bu durum, menisküsün travmatik yırtıklarda mekanik yük aktarımını

düzenleyebilmek için fibriller kollajenlerin organizasyonunu yeniden optimize etmeye çalıştığını düşündürmektedir.

Buna karşın, dejeneratif menisküs dokularında *COL12A1* gen ekspresyonunun azalması, kronik süreçte ECM bütünlüğünün bozulması, fibrillerin düzensizleşmesi ve mekanik dayanıklılığın azalmasıyla ilişkilendirilebilir. Fung ve ark.'nın modelinde *COL12A1* eksikliğinin ECM paketlenmesini bozduğu ve fibriller kollajenlerin normal hizalanmasını engellediği gösterilmiştir (102). Bu mekanizma, bizim çalışmamızda dejeneratif menisküslerde gözlenen ECM disorganizasyonu ile uyumludur. Dolayısıyla, *COL12A1* kaybı veya azalmış ekspresyonu, menisküs dokusunda mekanik yük dağılımının bozulmasına ve ilerleyici dejeneratif değişimlere katkıda bulunabilir.

Bu bakımdan, tendon modeli ile menisküs travma-dejenerasyon modeli karşıt yönlerde gelişen ancak biyolojik olarak tamamlayıcı bir çerçeve sunmaktadır: tendon veya menisküs dokusunda *COL12A1* eksikliği bozulmaya neden olurken, travmatik süreçteki artışı yeniden yapılanmayı desteklemektedir.

Fung ve ark.'nın literatürde tanımladığı ECM stabilizasyon mekanizmaları, çalışmamızda travmatik menisküslerde gözlenen *COL12A1* artışının doku bütünlüğü ve mekanik direnç açısından bir rol aldığı, dejeneratif menisküslerdeki azalmanın ise ECM zayıflığına bağlı dejeneratif sürecin ilerleyişine katkı sunduğunu göstermektedir (102). Bu nedenle kolajen XII, menisküs dokusunda hem akut onarımın hem de kronik dejenerasyonun önemli bir moleküler belirteci olarak değerlendirilebilir.

Kuivaniemi ve Tromp'un *COL3A1* geninin biyolojik işlevlerine ilişkin değerlendirmesinde, tip III kollajenin bağ dokusu esnekliği, fibril organizasyonu ve ECM bütünlüğünün korunmasında kritik rol oynadığı vurgulanmıştır (103). Araştırmacılar, *COL3A1*'in özellikle fibröz dokuların mekanik dayanıklılığı ve elastik özelliklerinin sürdürülmesinde temel bir yapısal bileşen olduğunu belirtmiştir. Bu bulgular, *COL3A1*'in bağ dokularındaki yapısal bütünlüğün ve mekanik uyumun korunmasında önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir. Çalışmamızda, travmatik menisküs dokularında *COL3A1* gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı, buna karşılık dejeneratif menisküs dokularında arttığı belirlenmiştir. Bu yönelim, Kuivaniemi ve Tromp'un vurguladığı *COL3A1*'in dokusal elastisite ve ECM bütünlüğünün sürdürülmesindeki rolü ile uyumludur.

Kuivaniemi ve Tromp, tip III kollajenin fibroblastlar ve kondrositler tarafından sentezlenen fibriller bir kollajen alt tipi olduğunu; doku elastikiyetini sağladığını, hücre-matriks etkileşimini düzenlediğini ve mekanik dayanıklılığı artırdığını bildirmiştir (103). Çalışmamızda dejeneratif menisküslerde *COL3A1* artışı, kronik süreçte ECM yeniden yapılanması, fibrotik adaptasyon ve doku sertliğinde artış ile ilişkili bir biyolojik yanıtı yansıtmaktadır. Bu durum, uzun süreli mekanik stres altında ECM kompensasyonunun aşırı aktif hale geldiğini ve fibrotik yeniden yapılanmanın geliştiğini düşündürmektedir.

Buna karşılık, travmatik menisküslerde *COL3A1* ekspresyonundaki azalma, akut doku hasarı sonrasında fibriller kollajen sentezinin geçici olarak baskılanması ve katabolik genlerin baskın hale gelmesi ile ilişkilendirilebilir. Bu sonuç, travmatik süreçte ECM yıkımının onarım fazına geçmeden önceki erken evrede gerçekleştiğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, *COL3A1* 'in akut fazda azalması, ECM'nin geçici olarak destabilize olduğu, ancak daha sonra rejeneratif mekanizmalarla yeniden düzenlendiği bir biyolojik dinamiğe işaret etmektedir.

Kuivaniemi ve Tromp'un literatürde tanımladığı moleküler mekanizmalar, dejeneratif menisküslerde gözlenen *COL3A1* artışının kronik fibrotik yeniden yapılanma ve ECM sertleşmesi ile ilişkili olduğunu, travmatik menisküslerdeki azalmanın ise akut ECM yıkımı ve geçici yapısal dengesizlikle bağlantılı olduğunu göstermektedir (103). Bu nedenle *COL3A1*, menisküs dokusunda rejeneratif ve fibrotik süreçlerin yönünü belirleyen önemli bir moleküler belirteç olarak değerlendirilebilir.

Chou ve ark. tarafından yapılan çalışmada, *COL21A1* 'in fibril-assosiyeli kollajen alt grubunda yer aldığı ve özellikle vasküler düz kas hücreleri tarafından üretildiği bildirilmiştir (104). Araştırmacılar, platelet-derived growth factor (PDGF-BB) ile uyarılmış hücre modellerinde *COL21A1* ekspresyonunun anlamlı düzeyde arttığını, buna karşın erişkin dokularda düşük, fetal dokularda ise yüksek düzeyde ekspresyon gösterdiğini rapor etmişlerdir (104). Bu bulgular, *COL21A1* 'in pasif bir matriks bileşeni değil, vasküler destekli ECM reorganizasyon sürecinin aktif bir modülatörü olduğunu göstermektedir (104). Çalışmamızda, travmatik menisküs grubunda *COL21A1* gen ekspresyonunun belirgin şekilde artmış olması, akut faz ECM yeniden yapılanmasının aktive olduğu biyolojik modele uygun bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Travmatik menisküsler, ani mekanik yüklenme sonucu akut doku hasarı oluşturan ve kısa zaman penceresinde reorganizasyon ile cevap veren bir biyolojik modele sahiptir. Bizim çalışmamızda *COL2IA1* artışının gözlenmesi, Chou ve ark.'nın PDGF ile indüklenebilir *COL2IA1* modeliyle biyolojik paralellik göstermektedir (104). Bu durum, travmatik menisküs dokusunun yalnızca yapısal kayba uğramadığını; aksine akut fazda ECM'i yeniden yapılandırma kapasitesine moleküler düzeyde hâlâ sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Buna karşılık dejeneratif menisküslerde *COL2IA1* ekspresyonunun anlamlı düzeyde azalması, kronik fazda ECM yeniden yapılanma programının yetersiz kaldığını ve fonksiyonel tükenme yönünde ilerleyen bir matriks fenotipine geçişi işaret etmektedir. Bu bulgu, Chou ve ark.'nın *COL2IA1* ekspresyonunun fetal dokularda yüksek, erişkin dokularda düşük olduğunu gösteren sonuçlarıyla da uyumludur (104). Bu paralellik, dejeneratif süreçte ECM'nin rejeneratif kapasitesinin azalmasını, *COL2IA1* aracılı yapısal yeniden yapılanmanın bozulmasıyla ilişkilendirmektedir.

Chou ve ark.'nın *COL2IA1*'in PDGF aracılı vasküler ECM düzenleme işlevi ile bizim çalışmamızda travmatik menisküslerde saptanan *COL2IA1* artışı birlikte değerlendirildiğinde, bu genin akut faz doku onarımının moleküler belirteci olabileceği düşünülmektedir. Buna karşın, dejeneratif menisküslerdeki azalmanın kronik ECM tükenmesine ve doku bütünlüğünün kaybına katkı sağladığı görülmektedir. Dolayısıyla *COL2IA1*, menisküs hasarlarının rejeneratif potansiyelini yansıtan önemli bir biyobelirteç olarak değerlendirilebilir.

Mylyharju ve Kivirikko'nun kollajen süperaili ve ilişkili hastalıklara yönelik kapsamlı incelemesi, çalışmamızda saptanan gen ekspresyon farklılıklarının yapısal ve biyolojik temelini açıklayan önemli bir teorik çerçeve sunmaktadır. Yazarlar, kollajen ailesinin yalnızca fibril oluşturan üyelerden ibaret olmadığını; aynı zamanda transmembran (Tip XIII, Tip XVII) ve endostatin içeren non-fibriller (Tip XV, Tip XVIII) alt grupların da ECM bütünlüğü ve hücre sinyalizasyonunda aktif roller üstlendiğini vurgulamaktadır (105). Bu bilgi, çalışmamızda özellikle *COL13A1*, *COL15A1* ve *COL2IA1* genlerinde gözlenen farklı ekspresyon paternlerinin, menisküs dokusundaki fibriller organizasyon ile non-fibriller destek sistemleri arasındaki dinamik dengenin yeniden düzenlenmesi sürecini yansıttığını göstermektedir.

Mylyharju ve Kivirikko, Tip XIII kollajenin membranla ilişkili MACIT alt ailesinde yer aldığını ve integrin aracılı hücre-matriks bağlantılarının korunması için kritik öneme sahip olduğunu bildirmiştir (105). Tip XIII kollajenin üç kollajenöz bölge içeren ve plazma membranına gömülü formda bulunan bir trimer yapısına sahip olduğu; bu sayede hem hücre yüzeyinde adezyon hem de fibril çevresinde stabilite sağladığı belirtilmiştir (105). Çalışmamızda *COL3A1* ekspresyonunun travmatik menisküslerde azalmış, dejeneratif dokularda artmış olması, akut dönemde adezyon köprülerinin zayıfladığını ancak kronik süreçte hücre-ECM ara yüzünün yeniden organize edilmeye çalışıldığını düşündürmektedir. Bu yönelim, Mylyharju ve Kivirikko'nun Tip XIII kollajenin zincir stabilitesi ve prolin-hidroksilasyonuna bağımlı üçlü heliks yapısının bozulmasıyla ECM dayanıklılığının azaldığı yönündeki vurgusuyla biyolojik olarak uyumludur (105).

Aynı incelemede, Tip XV kollajenin endostatin içeren non-fibriller kollajen ailesinin (Tip XV ve Tip XVIII) bir üyesi olarak kapiller mikrosirkülasyon ve bazal membran stabilitesi açısından kilit rol oynadığı belirtilmiştir (105). Bu kollajenin damar çevresi ECM içinde anti-anjiyojenik etkiler ve mikrovasküler bütünlüğün korunması gibi işlevlere sahip olduğu rapor edilmiştir (105). Çalışmamızda *COL15A1*'in dejeneratif menisküslerde artmış olması, bu genin uzun süreli dokusal stres altında mikrovasküler destek yapısını sürdürmeye yönelik kompensatuvar bir yanıt oluşturduğunu düşündürmektedir. Buna karşın, travmatik menisküslerde düşük *COL15A1* ekspresyonu, akut dönemde mikrovasküler ECM'in henüz reorganize edilmediğini ve “erken instabilite evresinin” sürdüğünü düşündürmektedir.

Mylyharju ve Kivirikko ayrıca *COL3A1* gibi fibril oluşturan kollajenlerin özellikle Ehlers-Danlos sendromu tip IV ve arteriyel anevrizma gibi bağ dokusu hastalıklarında ECM zayıflığı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (105). Çalışmamızda *COL3A1* ekspresyonunun travmatik menisküslerde azalmış, dejeneratif dokularda artmış bulunması, bu kollajenin ECM elastikiyetini ve doku dayanıklılığını destekleyici rolünü doğrular niteliktedir. Bu yönüyle, akut travma sonrası yapısal kollajen sentezinin baskılandığı, kronik fazda ise doku yeniden yapılanmasının “reparatif fibril artışı” şeklinde aktive olduğu söylenebilir.

Mylyharju ve Kivirikko'nun vurguladığı üzere, kollajen süperailesinin 1000'den fazla mutasyonu çeşitli bağ dokusu hastalıklarına yol açmakta ve bu mutasyonların çoğu

üçlü heliks bölgesinde glisin yer değişimleriyle yapısal stabiliteyi bozarak ECM dayanıklılığını azaltmaktadır (105). Çalışmamızda elde edilen diferansiyel gen ekspresyon profilleri, benzer biçimde ECM bütünlüğünü koruyan temel kollajenlerin (özellikle *COL13A1*, *COL15A1*, *COL3A1* ve *COL21A1*) menisküs dokusundaki dejeneratif sürece karşı farklı moleküler yanıtlar geliştirdiğini göstermektedir.

Mylyharju ve Kivirikko'nun tanımladığı fibril-forming, transmembran ve endostatin içeren kollajen alt aileleri, menisküs dokusundaki travmatik ve dejeneratif süreçlerin biyolojik zeminini anlamada değerli bir kavramsal çerçeve sağlamaktadır. Bulgularımız, bu yapısal kategorilerin menisküs patofizyolojisinde zamanlamaya bağlı dinamik bir rol dönüşümüne uğradığını göstermekte; travmatik dönemde akut stabilite kaybı, dejeneratif dönemde ise gecikmiş kompensatuvar yeniden yapılanma paterninin baskın olduğunu düşündürmektedir.

Eyre ve ark. tarafından yapılan kapsamlı inceleme, kollajen fibrillerindeki çapraz bağlanma (cross-linking) süreçlerinin dokuya özgü mekanik dayanıklılık ve biyokimyasal stabilite üzerindeki belirleyici rolünü vurgulamaktadır (106). Yazarlar, özellikle Tip I, II, III, V ve XI gibi fibril oluşturan kollajenlerde çapraz bağ yapısının lizil oksidaz aracılı aldehit türevleri üzerinden geliştiğini ve bu bağların fibril bütünlüğünü koruyan temel yapısal unsurlar olduğunu göstermiştir (106). Bu mekanizmanın bozulması, dokuların elastikiyet ve yük taşıma kapasitesinde belirgin azalmaya yol açmaktadır. Çalışmamızda menisküs dokularında *COL11A1*, *COL3A1* ve *COL12A1* gibi genlerde gözlenen ekspresyon değişiklikleri, Eyre ve ark.'nın tanımladığı bu post-translasyonel süreçlerle biyolojik olarak tutarlıdır. Özellikle *COL11A1* genindeki değişim, fibrillerin uç bölgelerinde oluşan hidroksilizin–piridinolin türevi çapraz bağların doku sertliği ve dayanıklılığını belirlemedeki kritik rolüyle paralellik göstermektedir (106). Bu bağlamda, dejeneratif menisküslerde *COL11A1* artışı, dokunun pyridinolin ve hidroksilizin-türevli çapraz bağlar aracılığıyla mekanik bütünlüğünü yeniden kazanmaya yönelik bir adaptasyon yanıtı olarak değerlendirilebilir.

Eyre ve ark., özellikle Tip II ve XI kollajenler üzerinde yaptıkları çalışmalarla, fetal kıkırdak dokusunda glukozil-galaktozil-hidroksilizin temelli divalent bağların baskın olduğunu; buna karşın erişkin dokuda hidroksilizin piridinolin formunun ön plana çıktığını göstermiştir (106). Bu değişim, fibril olgunlaşmasının zamanla bağ tipinde fonksiyonel bir dönüşüm yaşadığını ve ECM rijiditesinin arttığını ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda travmatik menisküslerde *COL11A1* azalması, fibril olgunlaşmasının erken dönemde yetersiz kaldığını; dejeneratif örneklerdeki artış ise daha olgun ve yüksek bağlanma kapasiteli fibril alt tiplerinin baskın hale geldiğini göstermektedir.

Eyre ve ark. ayrıca Tip IX ve XI kollajenlerin fibril yüzeyinde Tip II kollajene kovalent olarak bağlanarak heterotipik yapılar oluşturduğunu ve bu kombinasyonun dokuların yük taşıma ve esneklik özelliklerini düzenlediğini bildirmiştir (106). Bu bilgi, çalışmamızda *COL11A1* geninin travmatik menisküslerde artmış ekspresyonunun, fibril organizasyonunun yeniden kurulmasına yönelik kompensatuvar bir süreç olduğunu desteklemektedir. Benzer şekilde, *COL3A1* artışı da fibril elastikiyetini yeniden sağlama yönünde dokuya özgü bir yeniden yapılanma yanıtını temsil etmektedir.

Eyre ve ark., hidroksilizin piridinolin (HP) ve lizil piridinolin (LP) oranları arasındaki farklılıkların, dokuya özgü ECM fenotiplerini belirlemede kritik olduğunu bildirmiştir (106). Bizim çalışmamızda travmatik ve dejeneratif menisküsler arasında gözlenen gen düzeyi farkları, menisküs dokusunun yüklenme altında maruz kaldığı farklı çapraz bağlaşma fenotiplerini yansıtmaktadır. Bu veriler, Eyre ve ark.'nın ortaya koyduğu post-translasyonel modifikasyon ve çapraz bağ temelli yapı-fonksiyon ilişkisi modelinin menisküs patofizyolojisinde de geçerli olduğunu göstermektedir (106).

Kadler ve ark., fibril-oluşturan kollajenlerin (özellikle tip II ve XI) prokollajenden olgun kollajene geçişte N/C-propeptid uzaklaştırılması ve bunu izleyen fibril polimerizasyonu ile heterotipik fibril oluşumunun (örn. II/XI) doku mimarisini belirlediğini; fibril çapı ve paketlenmesinin tip V/XI gibi düzenleyici alt tiplerle kontrol edildiğini göstermiştir (107). Bu çerçeve, bizim menisküs verilerimizde *COL11A1* ve *COL3A1* yönelimlerini açıklayıcı niteliktedir. Çalışmamızda *COL11A1*'de travmatik fazda azalma, dejeneratif fazda artış eğilimi gözlenmesi, erken dönemde fibril çapı/çekirdek organizasyonunun yeterince kurulamadığını; kronik dönemde ise heterotipik fibril düzeninin (Tip II/XI) yeniden tesisine dönük kompensatuvar bir yanıt geliştiğini düşündürmektedir. Benzer biçimde *COL3A1*'in travmatikte azalması ve dejeneratifte artması, fibril oluşturan kolajen havuzunun (Tip III dâhil) elastisite ve mekanik dayanıklılığı destekleyecek şekilde kronik fazda artırıldığını düşündürmektedir.

Kadler ve ark. ayrıca FACIT kollajenlerinin (örn. *COL12A1*, *COL14A1*) fibril yüzeyine bağlanarak fibril-fibril etkileşimlerini ve dokunun mekanik uyumunu modüle

ettiğini vurgulamıştır (107). Bulgularımızda *COL12A1* ve *COL14A1* 'in travmatik grupta artmış bulunması, akut fazda fibril yüzeyi mimarisinin hızla yeniden düzenlenmesine dönük bir adaptasyonu işaret ederken; dejeneratif gruptaki daha düşük düzeyler, uzun süreli mikromekanik yük altında fibril yüzeyi düzenleyici repertuarın görece yetersiz kaldığını düşündürmektedir.

Özetle, Kadler ve ark.'nın ortaya koyduğu propeptid işlenmesi → fibril polimerizasyonu → heterotipik/düzenleyici alt tiplerle çap ve paketlenme kontrolü şeması, menisküs dokusunda gözlediğimiz paternle tutarlıdır: Travmada erken dönemde fibril çekirdek/surface yeniden kuruluşunu (*COL11A1*↓, *COL12A1*↑, *COL14A1*↑, *COL3A1*↓) yansıtan bir dengesizlik; dejenerasyonda ise gecikmiş fakat kalıcı yeniden yapılanma eğilimi (*COL11A1*↑ eğilimi, *COL3A1*↑) ön plana çıkmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında travmatik ve dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalardan elde edilen menisküs doku örnekleri RNA-Seq yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen veriler, her iki grubun kollajen ailesi gen ekspresyon profillerinde anlamlı farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuştur. Çalışma, histopatolojik olarak benzer özellikler taşıyan travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıklarının moleküler düzeyde farklı biyolojik süreçlere sahip olduğunu göstermiştir.

Elde edilen sonuçlar, travmatik grupta ECM yeniden yapılanması, hücre–matriks etkileşimi ve doku onarımıyla ilişkili bazı genlerin belirgin biçimde arttığını göstermektedir. Özellikle *COL14A1* (+3.24) ve *COL21A1* (+2.44) genlerinde saptanan istatistiksel olarak anlamlı artış, travmatik menisküs dokusunun akut hasar sonrasında matriks reorganizasyon kapasitesini koruduğunu göstermektedir. Ayrıca *COL12A1* geninin travmatik grupta artış eğilimi göstermesi, bu biyolojik yanıtın destekleyici bir parçası olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, travmatik sürecin biyolojik olarak daha “aktif” ve onarıma yönelimli bir ECM yanıtı içerdiğini düşündürmektedir.

COL12A1’deki artış eğilimi, fibril organizasyonu ve hücre–matriks etkileşimlerinin düzenlenmesinde rol alan biyolojik mekanizmaların travmatik dokuda kısmen korunabildiğini düşündürmektedir. *COL14A1*’in yüksek ekspresyonu, ECM stabilitesinin korunması ve kollajen fibril bağlantılarının yeniden yapılandırılması açısından önemli bir biyolojik süreçtir. *COL21A1*’in artmış düzeyde bulunması ise travmatik menisküslerde hücre–matriks etkileşimlerinin, yapısal organizasyonun ve doku iyileşmesine yönelik erken yanıt mekanizmalarının sürdüğünü göstermektedir.

Buna karşın dejeneratif grupta, ECM bütünlüğünün kronik süreçte bozulmasına bağlı olarak bazı kollajen genlerinde belirgin veya eğilim gösteren artışlar tespit edilmiştir. Özellikle *COL13A1*, *COL15A1* ve *COL5A1-AS1* genlerinde saptanan anlamlı artış; *COL26A1*, *COL11A1*, *COL3A1* ve *COL5A1* genlerinde gözlenen artış eğilimleri, dejeneratif menisküs dokusunda kompanse edilebilir ancak düzensiz bir matriks yanıtının geliştiğini göstermektedir. Bu ekspresyon profili, ECM’nin fizyolojik organizasyonunun bozulduğu, kollajen fibrillerinin heterojen ve düzensiz biçimde yeniden dizildiği ve dokunun kronik bir fibrotik yapıya dönüştüğü bir patolojik süreci işaret etmektedir.

COL13A1 genindeki belirgin artış, dejeneratif menisküs dokusunda hücre–matriks adezyonu ile ilişkili mekanizmaların kronik süreçte yeniden düzenlendiğini düşündürmektedir. *COL15A1*'in anlamlı biçimde artmış olması, bazal membran yapılarının bozulmuş ECM ortamında kompensatuvar şekilde yeniden düzenlenmesine yönelik geç bir onarım cevabını yansıtmaktadır. *COL3A1* ekspresyonundaki artış eğilimi, fibroblast aktivitesinin devam ettiğini ve fibriller kollajen sentezinin kronik dönemde düzensiz ve fibrotik bir matriks üretimine işaret edebileceğini göstermektedir. *COL5A1-AS1*'in yüksek düzeyi ise dejeneratif menisküslerde post-transkripsiyonel RNA düzenleyici süreçlerin fibrotik ECM ortamında daha belirgin hale geldiğini ve matriks homeostazisinin bu süreçlerle yeniden şekillendiğini ortaya koymaktadır.

Bu karşıt biyolojik desen, travmatik menisküslerde düzenli, kontrollü ve rejeneratif bir ECM yeniden yapılanması gözlenirken; dejeneratif menisküslerde düzensiz, fibrotik ve kompensatuvar bir yeniden yapılanmanın baskın olduğunu göstermektedir. Travmatik menisküsler, akut dönemde onarım kapasitesini koruyan bir fenotip sergilerken; dejeneratif menisküsler, kronik ECM bozulması ve rejeneratif yanıtın tükenmesi ile karakterizedir.

Bu sonuçlar, travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıklarının klinik olarak benzer görünmelerine rağmen biyolojik olarak tamamen farklı süreçlerle ilerlediğini göstermektedir. Travmatik menisküslerde onarım kapasitesi daha yüksek olup ECM yeniden yapılanması düzenli ve aktif bir süreç olarak devam etmektedir. Buna karşılık dejeneratif menisküslerde matriks yeniden yapılanması fizyolojik bütünlüğünü kaybetmiş, kollajen sentezi kompensatuvar ancak düzensiz bir yapıya dönüşmüş ve fonksiyonel rejeneratif yanıt belirgin şekilde zayıflamıştır. Bu durum, dejeneratif menisküs dokusunun kronik fibrotik bir fenotipe kaydığını ve iyileşme kapasitesinin önemli ölçüde sınırlı olduğunu göstermektedir.

Bu bulguların klinik yansıması, travmatik yırtıklarda erken dönemde uygulanacak rejeneratif biyoterapötik yaklaşımların (büyüme faktörleri, PRP, hücre dışı veziküller veya gen ekspresyon modülatörleri gibi) daha etkili olabileceğini; dejeneratif olgularda ise anti-fibrotik tedaviler, ECM-yenileyici ajanlar veya hücre temelli yaklaşımların ön plana çıkarılması gerektiğini göstermektedir.

RNA-Seq tabanlı bu yaklaşım, menisküs patolojilerinin yalnızca klinik değerlendirme, görüntüleme yöntemleri veya histopatolojik bulgularla sınıflandırılmasının yetersiz kalabileceğini; travmatik ve dejeneratif menisküs yırtıklarının moleküler düzeyde belirgin olarak ayrıştığını göstermektedir. Çalışmada elde edilen diferansiyel gen ekspresyon örüntüleri, özellikle kollajen ailesi genlerinin iki grupta karşıt biyolojik süreçleri yansıtan güçlü ayırt ediciler olduğunu ortaya koymuştur. Bu moleküler ayrışma, menisküs lezyonlarının gelecekte gen ekspresyon profilleri temel alınarak daha objektif ve biyolojik temelli alt tiplere ayrılabilceğini düşündürmektedir. Dolayısıyla RNA-Seq verilerinin klinik uygulamalara entegrasyonu, tanısal ve prognostik biyobelirteç panellerinin geliştirilmesi için önemli bir temel oluşturmakta ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik yeni bir perspektif sunmaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, travmatik menisküs yırtıkları akut dönemde ECM reorganizasyon kapasitesini koruyan, biyolojik olarak “aktif” ve rejeneratif süreci sürdürebilen dokular olarak görülmektedir. Buna karşılık dejeneratif menisküs yırtıkları, kronik süreçte matriks bütünlüğü bozulan, kollajen organizasyonu düzensizleşmiş ve rejeneratif yanıt kapasitesi azalmış dokuları temsil etmektedir. Bu farklılığın ortaya konulması, menisküs biyolojisinin anlaşılmasında ve tedavi yaklaşımlarının bireyselleştirilmesinde önemli bir katkı sağlamaktadır.

7. SINIRLILIKLAR

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, hasta gruplarının örneklem büyüklüğü sınırlı sayıda olup, özellikle dejeneratif ve travmatik menisküs grupları arasındaki bireysel biyolojik değişkenliklerin tam olarak genelleştirilememesi olasılığını doğurmaktadır. Örneklem büyüklüğünün sınırlı kalmasının temel nedeni, yüksek maliyetli RNA-Seq analizlerinin yürütülmesi için ayrılan araştırma bütçesinin kısıtlı olmasıdır. Bu durum, özellikle gen ekspresyon düzeylerindeki bireysel varyasyonların istatistiksel gücünü kısmen sınırlamış olabilir.

İkinci olarak, çalışma yalnızca RNA düzeyinde (transkriptomik) analizlere dayanmaktadır. Elde edilen gen ekspresyon değişikliklerinin protein düzeyinde doğrulanmamış olması, sonuçların fonksiyonel etkilerinin tam olarak gösterilememesine yol açmaktadır. Bu nedenle, gelecek çalışmalarda belirlenen genlerin proteomik, immünohistokimyasal veya fonksiyonel hücre kültürü modelleri ile desteklenmesi gerekmektedir.

Üçüncü olarak, çalışmada karşılaştırma grupları yalnızca travmatik ve dejeneratif menisküs olgularıyla sınırlıdır; sağlıklı menisküs dokusuna ait kontrol grubunun bulunmaması, referans ekspresyon seviyelerinin mutlak olarak belirlenmesini güçleştirmiştir. Bu durum, özellikle ECM genlerinin normal homeostatik düzeyleriyle karşılaştırmalı yorum yapılmasını kısıtlamaktadır.

Buna ek olarak, çalışmada yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite düzeyi, metabolik hastalık öyküsü ve sistemik inflamasyon gibi potansiyel biyolojik değişkenler tam olarak kontrol altına alınamamıştır. Bu faktörlerin menisküs biyolojisi üzerindeki etkisi göz önünde bulundurulduğunda, gen ekspresyon farklılıklarında bu değişkenlerin de payı olabileceği dikkate alınmalıdır.

Son olarak, RNA-Seq analizleri dokuların bütüncül ekspresyon profiline dayanmaktadır; bu nedenle, hücresel düzeydeki heterojenite (örneğin fibrokondrosit, fibroblast veya endotel hücre oranları) tam olarak ayrıştırılamamıştır. Bu durum, belirli gen değişikliklerinin hücre tipine özgü mi yoksa genel matriks yanıtına mı ait olduğunu kesin olarak ayırmayı güçleştirmektedir.

Tüm bu sınırlamalara rağmen, bu çalışma menisküs dokusunun moleküler yanıtlarını ortaya koyan ve travmatik ile dejeneratif süreçler arasındaki biyolojik farklılıkları yüksek duyarlılıkla gösteren ilk RNA-Seq temelli araştırmalardan biri olma özelliğini taşımaktadır.



8. KAYNAKLAR

1. Fox AJS, Wanivenhaus F, Burge AJ, Warren RF, Rodeo SA. The human meniscus: A review of anatomy, function, injury, and advances in treatment. *Clinical Anatomy*. 2015 Mar 14;28(2):269–87.
2. Noble J, Hamblen DL. The pathology of the degenerate meniscus lesion. *J Bone Joint Surg Br*. 1975 May;57(2):180–6.
3. Long Y, Xie J, Zhang ZQ, Zhang Z, Meng F, He A. Substantive molecular and histological changes within the meniscus with tears. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019 Dec 1;20(1):577.
4. López-Franco M, Gómez-Barrena E. Cellular and molecular meniscal changes in the degenerative knee: a review. *J Exp Orthop*. 2018 Dec 19;5(1):11.
5. Rai MF, Brophy RH, Rosen V. Molecular biology of meniscus pathology: Lessons learned from translational studies and mouse models. *Journal of Orthopaedic Research*. 2020 Sep 2;38(9):1895–904.
6. Brophy RH, Sandell LJ, Rai MF. Traumatic and Degenerative Meniscus Tears Have Different Gene Expression Signatures. *Am J Sports Med*. 2017 Jan 1;45(1):114–20.
7. Huang H, Zheng J, Deng M, Fang Y, Zhan D, Wang G. Identification of pathways and genes associated with meniscus degeneration using bioinformatics analyses. *Am J Transl Res*. 2021;13(11):12410–20.
8. APLEY AG. The diagnosis of meniscus injuries; some new clinical methods. *J Bone Joint Surg Am*. 1947 Jan;29(1):78–84.
9. Annandale T. An Operation for Displaced Semilunar Cartilage. *BMJ*. 1885 Apr 18;1(1268):779–779.
10. Annandale T. Excision of the Internal Semilunar Cartilage, Resulting in Perfect Restoration of the Joint-Movements. *BMJ*. 1889 Feb 9;1(1467):291–2.
11. FAIRBANK TJ. Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br*. 1948 Nov;30B(4):664–70.
12. Ikeuchi H. The early days of arthroscopic surgery in japan. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 1988 Jan;4(3):222–5.
13. Sivananthan Sureshan, Mercer Walter. Mercer’s textbook of orthopaedics and trauma. Hodder Arnold; 2012. 1598 p.
14. Binnet MS, Demirörs H. Menisküs tamiri ve fiksasyon yöntemleri. *BSJ AOTT*. 1994;28:286–91.
15. TOH E, editor. Bizim Öykümüz. Türk Spor Yaralanmaları ve Artroskopi Derneği Yayınları; 2008.
16. Pınar H, Uğur H, Yavuz K, Haydar TME. Menisküs. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2016.

17. T. E. Klinik Radyoloji. Bursa: Nobel Kitabevi; 2008. 106–789 p.
18. Fox AJS, Bedi A, Rodeo SA. The basic science of human knee menisci: structure, composition, and function. *Sports Health*. 2012 Jul;4(4):340–51.
19. Sanchez-Adams J, Athanasiou KA. The Knee Meniscus: A Complex Tissue of Diverse Cells. *Cell Mol Bioeng*. 2009 Sep 10;2(3):332–40.
20. M. J. The Knee. In: *MRI of the Musculoskeletal System: A Teaching File*. New York: Raven Press; 1990. p. 251–385.
21. P. H. Menisküs: anatomi ve propriosepsiyon. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1997;31:392–6.
22. Kusayama T, Harner CD, Carlin GJ, Xerogeanes JW, Smith BA. Anatomical and biomechanical characteristics of human meniscomfemoral ligaments. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 1994 Dec;2(4):234–7.
23. Goldblatt JP, Richmond JC. Anatomy and biomechanics of the knee. *Oper Tech Sports Med*. 2003 Jul;11(3):172–86.
24. Freeman MA, Wyke B. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. *J Anat*. 1967 Jun;101(Pt 3):505–32.
25. Jerosch J, Prymka M, Castro WH. Proprioception of knee joints with a lesion of the medial meniscus. *Acta Orthop Belg*. 1996 Mar;62(1):41–5.
26. Kennedy JC, Alexander IJ, Hayes KC. Nerve supply of the human knee and its functional importance. *Am J Sports Med*. 1982 Nov 1;10(6):329–35.
27. Zimny ML, Albright DJ, Dabiezies E. Mechanoreceptors in the Human Medial Meniscus. *Cells Tissues Organs*. 1988;133(1):35–40.
28. Kawamura S, Lotito K, Rodeo SA. Biomechanics and healing response of the meniscus. *Oper Tech Sports Med*. 2003;11(2):68–76.
29. Dalcık H, Yıldırım. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2009. 368 p.
30. Clark CR, Ogden JA. 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 Apr;65(4):538–47.
31. Rodeo SA, S. K. Form and function of the meniscus. In: Einhorn TA, O’Keefe RJ, Buckwalter JA, editors. *Orthopedic Basic Science*. 3rd ed. Rosemont, IL, USA: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 175–89.
32. Makris EA, Hadidi P, Athanasiou KA. The knee meniscus: Structure–function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials*. 2011 Oct;32(30):7411–31.
33. Türkiye Spor Yaralanmaları Artroskopisi ve Diz Cerrahisi Derneği (TUSYAD). Tarihçe. Vol. 1. 2015.

34. Cameron HU, Macnab I. The structure of the meniscus of the human knee joint. Clin Orthop Relat Res. 1972;89:215–9.
35. Ferrer-Roca O, Vilalta C. Lesions of the meniscus. Part I: Macroscopic and histologic findings. Clin Orthop Relat Res. 1980;(146):289–300.
36. Gray JC. Neural and Vascular Anatomy of the Menisci of the Human Knee. Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy. 1999 Jan;29(1):23–30.
37. Petersen W, Tillmann B. Age-related blood and lymph supply of the knee menisci: A cadaver study. Acta Orthop Scand. 1995 Jan 8;66(4):308–12.
38. DeHaven KE, Arnoczky SP. Meniscus repair: basic science, indications for repair, and open repair. Instr Course Lect. 1994;43:65–76.
39. Assimakopoulos AP, Katonis PG, Agapitos M V, Exarchou EI. The innervation of the human meniscus. Clin Orthop Relat Res. 1992 Feb;(275):232–6.
40. Aydın AT. Diz eklemi anatomisi. In: Tandoğan NR, Alpaslan AM, editors. Diz Cerrahisi. Ankara; 1999. p. 5–18.
41. K. B. Six Year Follow-Up after Arthroscopic Meniscectomy. Adv Environ Biol. 2015;9(2):50–3.
42. Shrive NG, O'Connor JJ, Goodfellow JW. Load-bearing in the knee joint. Clin Orthop Relat Res. 1978;(131):279–87.
43. Walker PS, Erkiuan MJ. The Role of the Menisci in Force Transmission Across the Knee. Clin Orthop Relat Res. 1975 Jun;109:184–92.
44. Indelli PF, Szivek JA, Schnepf A, Grana WA. Load-Bearing at the Meniscomfemoral Joint: An in vitro Study in the Canine Knee. The Duke Orthopaedic Journal. 2011 Jun;1(1):39–43.
45. Fithian DC, Kelly MA, Mow VC. Material properties and structure-function relationships in the menisci. Clin Orthop Relat Res. 1990 Mar;(252):19–31.
46. Aagaard H, R. V. Function of the normal meniscus and consequences of meniscal resection. Scand J Med Sci Sports. 2007;9(3):134–40.
47. Baratz ME, Fu FH, Mengato R. Meniscal tears: The effect of meniscectomy and of repair on intraarticular contact areas and stress in the human knee. Am J Sports Med. 1986 Jul 1;14(4):270–5.
48. Kalaycı A, I. SYT. Diz Biyomekaniği ve Sağaltımın Biyomekanik İlkeleri. In: Akcalı ID, Gülsen M, Un K, editors. Kas İskelet Sistemi Biyomekaniği. Adana; 2009. p. 985–1048.
49. Tüzün F, U. EMA. Hareket Sistemi Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1997.
50. Allen CR, Wong EK, Livesay GA, Sakane M, Fu FH, Woo SL. Importance of the medial meniscus in the anterior cruciate ligament-deficient knee. Journal of Orthopaedic Research. 2000 Jan 18;18(1):109–15.

51. Boyd KT, Myers PT. Meniscus preservation; rationale, repair techniques and results. *Knee*. 2003 Mar;10(1):1–11.
52. McDermott I. Meniscal tears, repairs and replacement: their relevance to osteoarthritis of the knee. *Br J Sports Med*. 2011 Apr;45(4):292–7.
53. Drosos GI, Pozo JL. The causes and mechanisms of meniscal injuries in the sporting and non-sporting environment in an unselected population. *Knee*. 2004 Apr;11(2):143–9.
54. Sweigart MA, Athanasiou KA. Toward Tissue Engineering of the Knee Meniscus. *Tissue Eng*. 2001 Apr;7(2):111–29.
55. Rai MF, Patra D, Sandell LJ, Brophy RH. Transcriptome Analysis of Injured Human Meniscus Reveals a Distinct Phenotype of Meniscus Degeneration With Aging. *Arthritis Rheum*. 2013 Aug 26;65(8):2090–101.
56. Ozan H. *Anatomi*. 3rd ed. İstanbul: Klinisyen Tıp Kitabevleri; 2014.
57. Dere F. *Anatomi*. 3rd ed. Adana: Okullar Pazarı Kitabevi; 1994.
58. O. R. Meniscal lesions and their treatment. In: O'Connor's Textbook of Arthroscopic Surgery. Philadelphia; 1984. p. 124.
59. E. R. Menisküs yırtıklarının sınıflandırılması ve artroskopik menisküs rezeksiyonunun prensipleri. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1997;31:410–20.
60. C. ST. Campbell's Operative Orthopaedics. In: Canale TH, Beaty JH, editors. *Campbell's Operative Orthopaedics*. 11th ed. New York: Elsevier; 1989. p. 2396–435.
61. Ford GM, Hegmann KT, White GL, Holmes EB. Associations of body mass index with meniscal tears. *Am J Prev Med*. 2005 May;28(4):364–8.
62. RYTTER S, JENSEN LK, BONDE JP, JURIK AG, EGUND N. Occupational Kneeling and Meniscal Tears: A Magnetic Resonance Imaging Study in Floor Layers. *J Rheumatol*. 2009 Jul;36(7):1512–9.
63. Snoeker BAM, Bakker EWP, Kegel CAT, Lucas C. Risk Factors for Meniscal Tears: A Systematic Review Including Meta-analysis. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. 2013 Jun;43(6):352–67.
64. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Jan;18(1):24–33.
65. Weiss W, Johnson D. Update on Meniscus Debridement and Resection. *Journal of Knee Surgery*. 2014 Aug 27;27(06):413–22.
66. Evans PJ, Bell GD, Frank C. Prospective evaluation of the McMurray test. *Am J Sports Med*. 1993 Jul 1;21(4):604–8.
67. Akseki D, Özcan Ö, Boya H, Pınar H. A new weight-bearing meniscal test and a comparison with McMurray's test and joint line tenderness. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 2004 Nov;20(9):951–8.

68. Fowler PJ, Lubliner JA. The predictive value of five clinical signs in the evaluation of meniscal pathology. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 1989 Sep;5(3):184–6.
69. Messieh S, Fowler P, Munro T. Anteroposterior radiographs of the osteoarthritic knee. *J Bone Joint Surg Br*. 1990 Jul;72-B(4):639–40.
70. A. GŞ. Diz Ekleminde Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri. In: Ege R, editor. *Diz Sorunları*. 2nd ed. Ankara: Bizim Büro Basımevi; 1998. p. 139–81.
71. E. EÜ. Menisküs görüntüleme yöntemleri. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1997;31:402–9.
72. Patil AS, Chandorkar AH. Imaging of meniscus repair and healing: a review of current trends. 2016;23–7.
73. Pujol N, Panarella L, Selmi TAS, Neyret P, Fithian D, Beaufils P. Meniscal Healing after Meniscal Repair. *Am J Sports Med*. 2008 Aug 15;36(8):1489–95.
74. Gray SD, Kaplan PA, Dussault RG. IMAGING OF THE KNEE. *Orthopedic Clinics of North America*. 1997 Oct;28(4):643–58.
75. İğci E, Balcı P, O. O. Normal diz ekleminin ultrasonografik incelemesi (US-MR karşılaştırmalı çalışma). *Radyoloji ve Tıbbi Görüntüleme Dergisi*. 1992;219:375–80.
76. E. M. Meniskus lezyonlarının tanısında CT ve artro-CT'nin yeri. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1992;26:331–3.
77. Crues J V, Mink J, Levy TL, Lotysch M, Stoller DW. Meniscal tears of the knee: accuracy of MR imaging. *Radiology*. 1987 Aug;164(2):445–8.
78. Oei EHG, Nikken JJ, Verstijnen ACM, Ginai AZ, Myriam Hunink MG. MR Imaging of the Menisci and Cruciate Ligaments: A Systematic Review. *Radiology*. 2003 Mar;226(3):837–48.
79. Heybeli N, E. M. Menisküs Lezyonları; Güncel Yaklaşım. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 1999;6(3):5–9.
80. Weiss CB, Lundberg M, Hamberg P, DeHaven KE, Gillquist J. Non-operative treatment of meniscal tears. *J Bone Joint Surg Am*. 1989 Jul;71(6):811–22.
81. Lanzer WL, Komenda G. Changes in articular cartilage after meniscectomy. *Clin Orthop Relat Res*. 1990 Mar;(252):41–8.
82. Hare KB, Lohmander LS, Christensen R, Roos EM. 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 Dec 25;14(1):71.
83. Katz JN, Meredith DS, Lang P, Creel AH, Yoshioka H, Neumann G, et al. Associations among preoperative MRI features and functional status following arthroscopic partial meniscectomy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 May;14(5):418–22.

84. O'Connor RL, Shahriaree Heshmat. O'Connor's textbook of arthroscopic surgery. Textbook of arthroscopic surgery. Philadelphia: Lippincott; 1984.
85. Rodeo SA. Meniscal Allografts—Where Do We Stand? *Am J Sports Med.* 2001 Mar 1;29(2):246–61.
86. Spencer SJ, Saithna A, Carmont MR, Dhillon MS, Thompson P, Spalding T. Meniscal scaffolds: Early experience and review of the literature. *Knee.* 2012 Dec;19(6):760–5.
87. McDermott ID, Amis AA. The consequences of meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br.* 2006 Dec;88-B(12):1549–56.
88. Venkatachalam S, Godsiff SP, Harding ML. Review of the clinical results of arthroscopic meniscal repair. *Knee.* 2001 May;8(2):129–33.
89. Sun Y, Mauerhan DR, Honeycutt PR, Kneisl JS, Norton JH, Hanley EN, et al. Analysis of meniscal degeneration and meniscal gene expression. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010 Dec 28;11(1):19.
90. Monibi FA, Pannellini T, Croen B, Otero M, Warren R, Rodeo SA. Targeted transcriptomic analyses of RNA isolated from formalin-fixed and paraffin-embedded human menisci. *Journal of Orthopaedic Research.* 2022 May 18;40(5):1104–12.
91. Wesdorp MA, Eijgenraam SM, Meuffels DE, Bierma-Zeinstra SMA, Kleinrensink GJ, Bastiaansen-Jenniskens YM, et al. Traumatic Meniscal Tears Are Associated With Meniscal Degeneration. *Am J Sports Med.* 2020 Aug 14;48(10):2345–52.
92. Aydın N, Karaismailoğlu B, Alaylıoğlu M, Gezen-Ak D, Şengül B, Candaş E, et al. Gene expression profiling of primary fibrochondrocyte cultures in traumatic and degenerative meniscus lesions. *Journal of Orthopaedic Surgery.* 2021 Jan 1;29(1).
93. Chen M, Zhou S, Shi H, Gu H, Wen Y, Chen L. Identification and validation of pivotal genes related to age-related meniscus degeneration based on gene expression profiling analysis and in vivo and in vitro models detection. *BMC Med Genomics.* 2021 Dec 29;14(1):237.
94. Pihlajaniemi T. Transmembrane and multiplexin collagens in development and pathobiology. *Matrix Biology.* 2025 Dec;142:11–20.
95. Härönen H, Zainul Z, Tu H, Naumenko N, Sormunen R, Miinalainen I, et al. Collagen XIII secures pre- and postsynaptic integrity of the neuromuscular synapse. *Hum Mol Genet.* 2017 Jun 1;26(11):2076–90.
96. Ansoorge HL, Meng X, Zhang G, Veit G, Sun M, Klement JF, et al. Type XIV Collagen Regulates Fibrillogenesis. *Journal of Biological Chemistry.* 2009 Mar;284(13):8427–38.

97. Tao G, Levay AK, Peacock JD, Huk DJ, Both SN, Purcell NH, et al. Collagen XIV is important for growth and structural integrity of the myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 2012 Nov;53(5):626–38.
98. Nizamoglu M, Koloko Ngassie ML, Meuleman RA, Banchero M, Borghuis T, Timens W, et al. Collagen type XIV is proportionally lower in the lung tissue of patients with IPF. *Sci Rep.* 2023 Nov 8;13(1):19393.
99. Izu Y, Birk DE. Collagen XII mediated cellular and extracellular mechanisms in development, regeneration, and disease. *Front Cell Dev Biol.* 2023 Mar 2;11.
100. Sun X, Wang S, Tian J, Li M. Role of long non-coding RNAs in cartilage development and osteoarthritis pathogenesis. *Eur J Med Res.* 2025 Sep 29;30(1):900.
101. Wang R, Shiu HT, Lee WYW. Emerging role of lncRNAs in osteoarthritis: An updated review. *Front Immunol.* 2022 Oct 11;13.
102. Fung A, Sun M, Soslowsky LJ, Birk DE. Targeted conditional collagen XII deletion alters tendon function. *Matrix Biol Plus.* 2022 Dec;16:100123.
103. Kuivaniemi H, Tromp G. Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene.* 2019 Jul;707:151–71.
104. Chou MY, Li HC. Genomic Organization and Characterization of the Human Type XXI Collagen (COL21A1) Gene. *Genomics.* 2002 Mar;79(3):395–401.
105. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens and collagen-related diseases. *Ann Med.* 2001 Jan 8;33(1):7–21.
106. Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Advances in collagen cross-link analysis. *Methods.* 2008 May;45(1):65–74.
107. KADLER KE, HOLMES DF, TROTTER JA, CHAPMAN JA. Collagen fibril formation. *Biochemical Journal.* 1996 May 15;316(1):1–11.