

Tavşanda Deneysel Osteoartrit Modelinde İnsan Amniotik Sıvısının Eklem İçi Uygulamasının Kıkırdak Doku ve Sinovya Üzerindeki Etkileri

Onur TİRELİOĞLU, M. Sadık BİLGİN, Teoman ATICI,
Ulviye YALÇINKAYA, Ömer Faruk BİLGİN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Bu deneysel çalışmada tavşanlarda oluşturulan deneysel osteoartrit modelinde eklem içi uygulanan insan amniyotik sıvı'nın (İAS) eklem kıkırdağı ve sinoviyal dokuya etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Osteoartrit geliştirilmek için 20 tavşanın sağ dizinin ön çapraz bağı kesildi. Dört hafta sonra 10 tavşana birer hafta ara ile 3 kez eklem içi 0,5 ml İAS enjeksiyonu uygulandı. (Grup 1). Diğer 10 tavşanda kontrol grubu olarak kaydedildi ve herhangi bir tedavi uygulanmadı. (Grup 2). En son uygulanan eklem içi enjeksiyondan 12 hafta sonra her iki gruptaki tavşanlar sakrifiye edildi. Eklem kıkırdak dokusunun makroskopik değerlendirilmesi için Meachim morfolojik evreleme sistemi, histopatolojik değerlendirmesi için modifiye Mankin değerlendirme sistemi kullanılmıştır. Sinoviyal doku histolojik değerlendirmesi Yoshimi'ye göre yapılmış ve sinoviyal hücre tabakası kalınlığı da ölçülmüştür. Makroskopik incelemede Grup 1'in %100'ü evre 1-2 iken Grup-2'nin %80'i evre 3-4 olarak değerlendirildi ($p<0,05$). Kıkırdağın histopatolojik değerlendirmesinde Grup 1'de medial femoral kondil ve medial tibial plato sıra ile 6,6 (1-12) ve 7,0 (1-12), Grup 2 de ise 17,8 (7-30) ve 18,9 (6-30) olarak tespit edildi ($p<0,05$). Sinoviyal doku histopatolojik derecelendirmesinde belirgin istatistiksel farklılık tespit edildi ($p<0,05$; Grup-1 6,3 (3-8), Grup-2 12,9 (6-17)). Ortalama sinoviyal hücre tabakası kalınlığı Grup 1'de 20 μ m (10-30) Grup 2'de 29 μ m olarak ölçüldü ($p<0,05$). Sonuç olarak proteinerden, makromoleküllerden ve büyüme faktörlerinden zengin inert bir sıvı olan İAS'ın, tavşan deneysel osteoartrit modelinde kıkırdak ve sinoviyal dokudaki dejeneratif değişikliklerine karşı koruyucu etkisinin olması nedeniyle kıkırdak koruyucu tedavi ajanlarına bir alternatif olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnsan amniyotik sıvısı. Kıkırdak koruyucu etki. Eklem içi enjeksiyon. Deneysel osteoartrit.

The Effects of Intra-Articular Injections of Human Amniotic Fluid in an Experimental Osteoarthritic Rabbit Model

ABSTRACT

This experimental study aimed to investigate the effects of intra-articular injection of human amniotic fluid (HAF) on articular cartilage and sinovial tissue in a developed osteo-arthritis rabbit knee model. The right knee anterior cruciate ligament was cut to develop osteoarthritis in 20 rabbits. After 4 weeks, 10 rabbits were given intra-articular injections of 0.5ml HAF once a week for 3 weeks (Group I). The other 10 rabbits as control group received no treatment (Group II). Both groups were sacrificed 12 weeks after the final injection. The Meachim morphologic grading for macroscopic evaluation, and modified Mankin evaluation for histopathological cartilage examination, were used. Histological evaluation of the synovial tissue according to Yoshimi histopathologic grading and the synovial lining cell layer thickness was measured. According to morphologic evaluation, 100% of group I had grade 1-2, while were %80 of group II had grade 3-4 ($p<0,05$). In the histopathological evaluation of the cartilage, the medial femoral condyles and medial tibial plateau in Group I were 6.6 (1-12) and 7.0 (1-12) respectively, while in Group II they were 17.8 (7-30) and 18.9 (6-30), ($p<0,05$). Significant differences were observed in the synovial tissue histopathologic grading ($p<0,05$; Group I 6.3 (3-8), Group II 12.9 (6-17). Mean synovial lining cell layer thickness was 20 μ m (10-30) in Group I and 29 μ m in Group II ($p<0,05$). Since HAF, which is an inert fluid, rich in proteins, macromolecules and growth factors, has protective effects against cartilage and synovial tissue changes in an experimental rabbit model, it may be an alternative agent in cartilage protective therapy.

Key Words: Human amniotic fluid. Chondroprotective effects. Intra-articular injection. Experimental osteoarthritis.

Geliş Tarihi: 14.12.2007

Kabul Tarihi: 01.02.2008

Dr. Ömer Faruk BİLGİN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı
16059 Görükle / BURSA
Email:ofbilgen@uludag.edu.tr
Tel/Fax: 0 224 4428632

Eklem kıkırdağının ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize bir hastalık olan primer osteoartritte (OA) kıkırdak harabiyetini yavaşlatacak ve tedavide son basamak olan total eklem protezi uygulamasını geciktirecek kıkırdak koruyucu ajanların geliştirilmesi amacıyla günümüzde birçok araştırma yapılmaktadır¹⁻³. Kıkırdak dokudaki yapım ile yıkım arasındaki dengenin bozulduğu bu hastalıkta dengenin yeniden

teminini sağlayabilecek ajanların geliştirilmesi yüksek maliyet ve ileri teknoloji gerektirmektedir.

Osteoartritin patogeneğinde etkili olduğu bilinen katabolik etkili sitokinlerin matris metalloproteinazlarını (MMP) aktifleştirmesi sonucu oluşacak kırık yıkımını engelleyebilecek veya matris sentezini artıracak birçok farklı ajan deneysel OA modellerinde araştırılmıştır⁴. Kırık yıkımını engelleyebilecek veya matris sentezini artıracak birçok farklı ajan deneysel OA modellerinde araştırılmıştır⁴. Kırık yıkımını etkileyen insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri, hyalünerik asit (HA) ve HA aktive edici ajan (HASA) gibi makromoleküller ile kırık yıkımını önleyebilecek insan fibroblast kollajenaz inhibitörü benzeri bir glikoprotein, α 2-makroglobulin ve doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) deneysel OA modellerinde tedavi edici etkileri araştırılan moleküllerdir⁵⁻⁸.

Kırık yıkımını etkileyen faktörlerden; insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi proteinleri, fibronektin, laminin ve vitronektin gibi HDM'in önemli glikoproteinlerini, HA ve HA aktive edici ajan (HASA) gibi makromolekülleri, kırık yıkımını önleyebilecek faktörlerden; insan fibroblast kollajenaz inhibitörü benzeri bir glikoprotein, α 2-makroglobulin ve doku metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) içeren insan amniotik sıvısının (İAS) kırık ve tendon iyileşmesi, kırık rejenerasyonu, periferik sinir iyileşmesi üzerindeki etkileri gösterilmiş olmasına karşın İngilizce literatürde eklem kırık üzerindeki etkilerini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır⁹⁻¹¹. Çalışmamızda, deneysel OA modelinde eklem içine uygulanan İAS'nın sinovyal ve kırık doku üzerindeki etkileri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Ağırlıkları 2000– 2500 gr arasında değişen 20 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılan ve etik kurul izni alındıktan sonra gerçekleştirilen bu çalışmada deneysel osteoartrit oluşturmak amacıyla ön çapraz bağ kesilmesi modeli kullanıldı. İkinci trimester gebelerde prenatal tanı amacıyla yapılan amniosentezde elde edilen insan amniotik sıvısı eklem içi enjeksiyon amacıyla kullanıldı. Amniosentez ile eklem içi uygulama arası geçen sürenin 24 saatten az olmasına özen gösterildi ve materyaller bu süre içerisinde -20 °C'de saklandı.

Tavşanlarda anestezi için kas içine 0.1 cc/kg % 2'lik ksilazin hidroklorür ve 20 mg/kg ketamin hidroklorür yapıldıktan sonra sağ dizlerine anterior longitudinal insizyon ile yaklaşıldı. Medial parapatellar artrotomi sonrası patella laterale disloke edildi ve ön çapraz bağ kesildi. Çapraz bağın tam olarak kesilip kesilmediği ön çekmece testi ile değerlendirilen deney hayvanları ameliyat sonrası dönemde normal kafes aktivitesine bırakıldı.

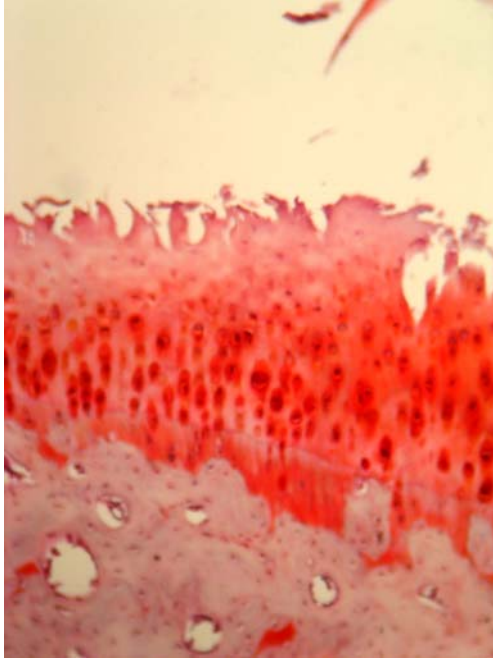
Uygulanan cerrahi girişimden 4 hafta sonra tavşanlar randomize olarak 2 gruba ayrılarak Grup I'dekiler birer hafta ara ile 3 kez eklem içi 0.5 ml İAS enjeksiyonu uygulandı. Kontrol grubu amacıyla Grup II olarak ayrılan diğer 10 tavşana ise herhangi bir enjeksiyon uygulanmadı. En son uygulanan eklem içi enjeksiyondan 12 hafta sonra Grup I ve Grup II'deki tavşanlar kas içi yüksek doz ketamin uygulanarak sakrifiye edildi. Tavşanların cerrahi girişim uygulanan diz eklemleri sinovya, femur ve tibia eklem yüzeylerini içerecek şekilde çıkartıldı. Femur medial kondil kırık doku dokusundaki makroskopik dejeneratif değişiklikleri değerlendirmek amacıyla Meachim morfolojik evreleme sistemi kullanıldı¹².

Tavşanların diz eklemleri histolojik değerlendirme öncesi %10'luk formaldehit içinde 3 gün ve %10'luk formik asit içinde kemik dokusu dekalsifiye olana kadar bekletildi. Medial eklem yüzeyini içeren medial femur kondili ve tibia platosu parafin bloklara alındı ve bu bloklardan sagittal planda 5 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Grup I ve Grup II'deki tavşanların hematoxilen-eozin (HE) ve safranin-O ile boyanan kırık doku, kemik ve sinovya dokusunu içeren bu kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Kırık doku ve sinovyal dokudaki histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde Yoshimi ve ark.¹ tarafından tanımlanan histolojik ve histokimyasal değerlendirme sistemi kullanıldı. Ayrıca sinovyalı döşeyen hücre tabakasının kalınlığı mikrometre kullanılarak ölçülen tavşanlarda elde edilen tüm değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde Mann-Whitney U testi ve Fischer'in Kesin Ki-Kare testi kullanıldı, p< 0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

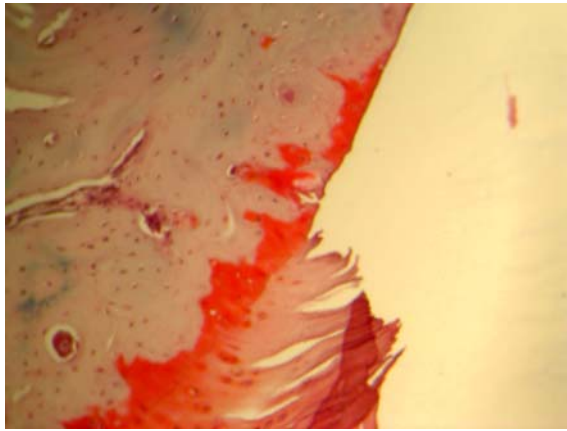
Bulgular

Deney boyunca hiçbir tavşanda ameliyat sonrası yara yeri enfeksiyonu ve septik artrit gelişmedi. Femur medial kondil eklem yüzeyinin makroskopik olarak değerlendirilmesinde ileri evre kırık doku hasarı (evre 3-4), Grup I'deki tavşanların hiçbirinde gelişmezken, Grup II'deki tavşanların 8'inde (%80) geliştiği tespit edildi (p<0.05) (Tablo I). Kırık dokunun histopatolojik değerlendirmesinde femur medial kondil için Grup I'de ortalama 6.6¹⁻¹² olarak tespit edilen puanlar Grup II'de 17.8⁷⁻³⁰, tibia medial platosu için ise sırasıyla ortalama 7.0 (1-12), 18.9⁶⁻³⁰ olup gruplar arasındaki fark anlamlı idi (p<0.05) (Tablo II) (Şekil 1,2). Sinovyal dokunun histopatolojik değerlendirmesinde de puanlar Grup I'de ortalama 6.3³⁻⁸ iken Grup II'de 12.9⁶⁻¹⁷ olarak tespit edildi (p<0.05). Sinovyalı döşeyen hücre tabakasının kalınlığı da Grup I'de ortalama 20 μ m (10-30), Grup II'de ise ortalama 29 μ m²⁰⁻⁴⁰ olarak ölçüldü (p<0.05) (Tablo III).

Osteoartritte Amniotik Sıvının Etkileri



Şekil 1:
safranin-O X 100 eklem yüzeyinde fibrilasyon, yarıklanma ve orta derecede safranin-O ile boyanma görülmekte.



Şekil 2:
safranin-O X 100 eklem kıkırdağının tam dezorganizasyonu ve subkondral kemiğin ortaya çıkışı. Safranin O ile boyanmada ciddi azalma görülmekte.

Tablo I- Tavşan femur medial kondil eklem yüzeyindeki dejeneratif değişikliklerin makroskopik değerlendirme sonuçları

Grup	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Toplam
I (n)	5	5	-	-	10
II (n)	1	1	4	4	10
Toplam	6	6	4	4	20

Tablo II- Tavşanların medial femoral kondil ve medial tibial plato kıkırdak dokusunun modifiye Mankin değerlendirme sistemine göre yapılan inceleme sonuçları

Histopatolojik değişiklikler	Grup I (n:10)	Grup II (n:10)	p
Medial Femoral kondil (ort.)	6.6 (1-12)	17.8 (7-30)	< 0.05
Medial Tibial Plato (ort.)	7.0 (1-12)	18.9 (6-30)	< 0.05

Tablo III- Sinoviyal dokudaki histopatolojik değişikliklerin ve sinoviyal hücre tabakası kalınlığının değerlendirilme sonuçları

Sinoviyal Değerlendirme	Grup I (n:10)	Grup II (n:10)	P
Histopatolojik Değişiklik (ort.)	6.3 (3-8)	12.9 (6-17)	<0.05
Hücre tabakasının kalınlığı (µm)	20 (10-30)	29 (20-40)	<0.05

Tartışma

Farklı etyopatolojik nedenlerle gelişen ve ilerleyici bir hastalık olan OA'in tedavisinde amaç; ağrıyı azaltmak, eklem hareket açıklığını artırmak ve fonksiyonel bozukluğu gidermektir. Tedavisinde farklı konservatif yöntemlerin kullanıldığı bu hastalıkta, cerrahi uygulama gereksinimini geciktirmek ve osteoartritin erken dönemlerinden itibaren başlayan fakat klinik bulgu vermeyen kıkırdak harabiyetini yavaşlatmak hedeflenir. İlk kez 1974 yılında Peyron ve Balazs¹³ tarafından dejeneratif artritli hastalarda eklem içi uygulanan HA ile elde edilen başarılı klinik sonuçlar farklı birçok çalışmada da bildirilmiş olmasına karşın %11'lere varan oranlarda gelişen lokal reaksiyonlar birçok araştırmacıyı farklı kıkırdak koruyucu tedavi ajanları geliştirmeye yönelik deneysel çalışmalara yönlendirmiştir¹⁻³. Çalışmamızda İAS'ın lokal kıkırdak koruyucu etkinliği araştırıldı.

OA'nın patogeneğinde birçok farklı etken tanımlanmıştır¹⁴. Viskoelastik ve kompresif özellikleri olan kıkırdak dokunun bu özellikleri hücre dışı matriksin (HDM) yapısının korunabilmesine bağlıdır. Normal kıkırdak dokuda HDM metabolizması yapım ve yıkım işlemlerinin dengede olduğu dinamik bir süreçtir. Bu dengenin yıkım lehine bozulduğu bir hastalık olan OA'te yıkıma neden olan katabolik enzimlerin sentez ve salınımı artar. Kıkırdak hücreleri üzerinde katabolik etkiye sahip olan IL-1, TNF-α, IL-6, NO gibi sitokinlerin, kıkırdak matriks yıkımına neden olan kollajenaz, jelatinaz, agrekanaz, elastaz ve fibronektin-yıkıcı stromelin-1'nin oluşturduğu matriks metalloproteinazlarını (MMP) aktive ettiği gösterilmiştir^{15,16}. Matriks metalloproteinazların etkisi ile gelişen kıkırdak degradasyonunun eklem içine GAG salınımına neden olarak reaksiyonel sinovite yol açtığı bildirilmiştir Bunun yanında sinovyal sıvıda sitokinlerin artması, sinovyal hücrelerde

inflamasyona neden olarak sinovite neden olur¹⁷. Kıkırdak dokuda yıkıma neden olan mediatörlerin etkilerini önleyebilecek, proteolitik enzimleri baskılayabilecek veya matriks sentezini artıracak terapötik ajanlar, günümüzde OA tedavisinde kıkırdak koruyucu yöntemlerin geliştirilmesinde araştırma konularını oluşturmaktadır⁴. Başarılı klinik sonuçları nedeniyle uygulama sıklığı giderek artan hyaluronik asitin kıkırdak koruyucu etki mekanizmasını açıklamak amacıyla farklı görüşler ileri sürülmüştür. Bruce ve ark¹⁸, negatif yüklü olan HA'nın pozitif yüklü büyüme faktörleri ile bağlanarak oluşturdukları kompleks ile bu faktörlerin salgılanmalarını ve aktivitelerini arttırdığını bununda hızlı ve düzenli doku iyileşmesinden sorumlu olduğunu bildirilmiştir. Yasui ve ark.da¹⁹, tavşan deneylerinde HA'nın anti-enflamatuvar etki gösterdiğini, TIMP-1 sentezini uyardığını tespit etmişlerdir.

Fetal iskelet gelişimi için önemli olduğu bilinen TGF- β , IGF -1, FGF gibi büyüme faktörlerinin kondrojenesis ve matriks sentezi için de etkili role sahip olduğu bildirilmiştir²⁰. Hunziker ve Rosenberg²¹, tavşan patellar oluk ve femur medial kondillerinde oluşturdukları parsiyel kıkırdak defektlerinde FGF, IGF-1, TGF- β , epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi mitojenik büyüme faktörlerini farklı hayvan gruplarında lokal olarak ayrı ayrı uyguladıklarını bildirdikleri çalışmalarında, defektin giderilmesinde bu faktörlerden en etkili olanının TGF- β olduğunu belirtmişlerdir. Van Beuningen ve ark.²² çalışmalarında fare dizlerine uyguladıkları TGF- β enjeksiyonu sonrası proteoglikan salınımının ve eklem kıkırdağının yüzeysel bölümünde proteoglikan içeriğinin arttığını göstermişlerdir. Rogachefky ve ark.²³ köpeklerde ön çapraz bağı keserek oluşturdukları OA modelinde eklem içi IGF-1, kas içi sülfatlı GAG ve bu iki ajanın kombine uygulayarak kıkırdak üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında kombine uygulanan gruptaki köpeklerin femur kondil kıkırdağının normal anatomik yapısını koruduğu ve Mankin evreleme sistemine göre yapılan histopatolojik değerlendirmede diğer gruptakilere göre OA derecesinin anlamlı oranda daha az olduğu tespit edilmiştir. Nixon ve ark.²⁴ IGF-1 gen terapisi ile uyguladıkları in vitro çalışmalarında, kondrositlerde tip II kollajen m RNA ekspresyonu ve sinovyal membranda HA üretimini arttığını göstererek OA'da eklem kıkırdağına yönelik IGF-1 gen terapisi uygulamasının medikal tedavi yöntemi olarak kullanılabilirliğini savunmuşlardır. Normal eklem kıkırdağında da bulunan, embriyojenik dönemde kondroprogenitör hücrelerden salınan ve kondrositler için en güçlü mitojenik bir büyüme faktörü olan FGF'ünde hasarlı dokuya fibroblastların göçü ile inflamasyonu baskıladığı ve bu yol ile OA'te inflamasyonun gerilmesini sağlayarak kıkırdak dokuda iyileşmeyi hızlandırdığı, kıkırdak matriksden GAG salınımı azalttığı ve reaksiyonel sinoviti engel-

lediği bildirilmiştir²⁵. Fujimoto ve ark.²⁶ 84 tavşanın 168 dizinde yaptıkları çalışmada tam kat kıkırdak lezyonu oluşturduklarını belirterek yaptıkları makroskopik ve yarı-kantitatif histopatolojik değerlendirme defektin FGF ile doldurulduğu tavşanlarda tedavi edilmeyen gruptaki tavşanlara göre defekti dolduran matriksin daha kalın olduğunu, histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen puanların anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Cuevas ve ark.²⁷ parsiyel defekt oluşturdukları çalışmada FGF uygulanan tavşanlarda, kontrol grubundaki tavşanlara göre defektin daha çok sayıda kondrosit içerdiğini ve iyileşmenin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Normalde eklem kıkırdak matriksinde MMP'ler ile TIMP'ler arasında hassas bir denge olduğu ve denge- nin MMP lehine bozulduğu osteoartritli eklemlerde bu durumun kıkırdak yıkımı ile sonuçlanacağı belirtilmiştir²⁸. Bu nedenle OA tedavisinde MMP'ler potansiyel hedef olarak düşünülmüştür¹⁴. Ön enzim şeklinde inaktif olan bu proteazların fonksiyonları kondrositlerce de sentezlenen α 2- makroglobulin ve TIMP'lerden özellikle TIMP-1 ve 2 tarafından baskılandığı gösterilmiştir²⁸. Kuroki ve ark.¹⁴ köpek eklem kondrositlerinden oluşturdukları hücre kültürlerinde TIMP uygulanan kondrosit kültürlerinde GAG içeriğinin daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Gendron ve ark.²⁹ kıkırdak hücre kültürlerinde TIMP-3 uygulanan kültürlerde agrekanaz aktivitesine bağlı gelişen GAG salınımının azaldığını immunokimyasal teknikle ispatlamışlardır.

Yoshimi ve ark.¹ tavşanlarda HA'nın eklem içi enjeksiyonunun etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, ön çapraz bağı keserek oluşturdukları deneysel OA modelinde, eklem içine 0.5 ml HA enjeksiyonunu 12 hafta süresince tekrarlamışlar ve bu süre sonunda histopatolojik incelemede modifiye Mankin değerlendirme sistemine göre medial femur kondil ve tibia plato kıkırdak dokusu için elde edilen ortalama puanı 11.5⁹⁻¹⁴ ve sinovyal doku değerlendirmesinde elde edilen puanı ise ortalama 10.8⁷⁻¹⁵ olarak tespit etmişlerdir. Sinovyal dokudaki reaksiyonun değerlendirilmesi amacıyla farklı çalışmalarda sinovyalı döşeyen hücre tabakası kalınlığı da değerlendirilmiştir^{1,30}. Yoshioka ve ark.³⁰ eklem içi HA enjeksiyonu uyguladıkları deneysel OA modelinde, bilgisayar ortamında histomorfometrik teknikle ölçülen sinovyal hücre tabakası kalınlığını ortalama 18 μ m olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Gerek Yoshimi ve ark.nın ve gerekse de Yoshioka ve ark.nın çalışmaları ile benzer yada daha olumlu sonuçların elde edildiği çalışmamızda bu olumlu sonuçları İAS'in içerdiği IGF-1, FGF gibi büyüme faktörlerinin anabolik etkilerine ve TIMP ile α 2-makroglobulinin gibi MMP inhibisyonu özelliği olan kıkırdak doku koruyucu moleküllerini içermesine ve fibronektin, vitronektin ve laminin proteinleri ile integrin reseptörlerini uyararak ve FGF'nin direkt etkisi ile sinovyal hiperplazi, hipertrofiyi ve

Osteoartritte Amniotik Sıvının Etkileri

inflamatuvar infiltrasyonu engellemesine bağlı olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, proteinler, glikoproteinler, makromoleküller ve büyüme faktörlerinden zengin, inert bir sıvı olan ve kıkırdak ve sinovyal dokuda gelişen dejeneratif değişikliklere karşı koruyucu etkisi bulunan İAS'nın, OA tedavisinde güncel tedavi yaklaşımlarından biri olan kıkırdak koruyucu ajanlara alternatif bir yöntem olabileceği kanısına varıldı. Bununla birlikte ileri çalışmaların planlanması ile, elde edilen bu olumlu etkinin mekanizmalarının aydınlatılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, Yamaguchi T, Sakakibara Y, Itoh H, Iwata H, Miura T. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthritis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clin Orthop Res* 1994; 298: 296-304.
2. Mendelson S, Wooley P, Lucas D, Markel D. The effect of hyaluronic acid on a rabbit model of full-thickness cartilage repair. *Clin Orthop Res* 2004; 424: 266-71.
3. Kobayashi K, Amiel M, Harwood FL, Haley RM, Sonoda M, Moriya H, Amiel D. Long-term effects of hyaluronan during development of osteoarthritis following partial meniscectomy in a rabbit model. *Osteoarthritis Cart* 2000; 8:359-65.
4. Clark, I.M., Rowan, A.D. and Cawston, T.E. Matrix metalloproteinase inhibitors in the treatment of arthritis. *Curr Opin Anti-inflammatory Immunomodulatory Drugs* 2, 2000; 16- 25.
5. Merimee TJ, Grant M, Tyson JE. Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 752:55.
6. Jngushi S, Joyce ME, Bolander ME. Basic fibroblast factors in rat fracture repair. *Orthop Trans* 1993; 17: 713-14.
7. Özgenel GY, Filiz G, Özcan M. Effects of human amniotic fluid on cartilage regeneration from free perichondrial grafts in rabbits. *Br J Plast Surg* 2004; 57: 427-28.
8. Harris MC, Mennuti MT, Kline JA, Polin RA. Amniotic fluid fibronectin concentrations with advancing gestational age. *Obstet Gynecol* 1988; 72(4):593-5.
9. Özgenel GY, Şamli B, Özcan M. Effects of human amniotic fluid on peritendinous adhesion formation and tendon healing after flexor tendon surgery in rabbits. *J Hand Surg* 2001; 26A(2): 332-9.
10. Özgenel GY. The influence of human amniotic fluid on the potential of rabbit ear perichondrial flaps to form cartilage tissue. *Br J Plast Surg* 2002; 55: 246-50.
11. Özgenel GY, Filiz G. Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *J neurosurg* 2003; 98: 371-77.
12. Meachim G. Light microscopy of Indian ink preparations of fibrillated cartilage. *Ann Rheum Dis* 1972; 31: 457-64.
13. Peyron JG, Balazs EA. Preliminary clinical assesment of N-hyaluronate injection into human arthritic joints. *Pathol Biol* 1974; 22:131.
14. Kuroki K, Cook JL et al. The effects of TIMP-1 and -2 on canine chondrocytes cultured in three-dimensional agarose culture system. *Ost Cart* 2003; 11: 625-35.
15. Mobasher A, Vannucci SJ, Bondy CA, Carter SD, Innes JF, Arteaga MF, Trujillo E, Ferraz I, Shakibaei M, Martin-Vasallo P. Glucose transport and metabolism in chondrocytes: A key to understanding chondrogenesis, skeletal development and cartilage degradation in osteoarthritis. *Histol Histopathol* 2002; 17:1239-67.
16. Goldring, M.B. Osteoarthritis and cartilage: the role of cytokines. *Curr Rheumatol Rep* 2, 2000; 459-65.
17. Shinmei M, Masuda K, Kikuchi T, Shimomura Y. Interleukin 1, tumor necrosis factor and interleukin 6 as mediators of cartilage destruction. *Semin Arthritis Rheum* 1989; 18(1): 27.
18. Bruce AM, Jeffrey HH et al. In vitro degradation of fetal wound hyaluronic acid results increased fibroplasia, collagen deposition and neovascularization. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89(3): 503-9.
19. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K, Hayashi M, Ando T. Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP 1) in bovine articular chondrocytes. *Biomed Res* 1992; 13: 343-8.
20. Chopra R, Anastasiades T. Specificity and synergism of polypeptide growth factors in stimulating the synthesis of proteoglycans and a novel high molecular weight anionic glycoprotein by articular chondrocyte cultures. *J Rheumatol* 1998; 25: 1578-84.
21. Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg* 1996; 78A: 721-33.
22. Van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, van den Berg WB. Transforming growth factor- β 1 stimulates articular chondrocyte proteoglycan synthesis and induces osteophyte formation in the murine knee joint. *Lab Invest* 1994; 71: 279-90.
23. Rogachefsky RA, Dean DD, Howell DS, Altman RD. treatment of canine osteoarthritis with insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and sodium pentosan poly- sulfate. *Ost Cart* 1993; 1: 105-14.
24. Nixon AJ, Brower-Toland BD et al. Insulinlike Growth Factor-I gene therapy applications for cartilage repair. *Clin Orthop* 2000; 379S: 201-13.
25. Gonzalez AM, Buscaglia M et al. Distribution of basic fibroblast growth factor in the 18 day rat fetus: localization in the basement membranes of diverse tissues. *J Cell Biol* 1990; 110: 753-65.
26. Fujimoto E, Ochi M, Kato Y. Beneficial effect of basic fibroblast growth factor on repair of full-thickness defects in rabbit articular cartilage. *Arch Orthop Trauma Surg* 1999; 119: 139-45.
27. Cuevas P, Burgos J, Baird A. Fibroblast growth factor (FGF) promotes cartilage repair in vivo. *Bio Res Comm* 1988; 156(2): 611-8.
28. Woessner Jr. MF, Gunja-Smith Z. Role of metalloproteinases in human osteoarthritis. *J Rheumatol* 1991; 18: 99-101.
29. Gendron C, Kashiwagi M et al. TIMP-3 inhibits aggrecanase-mediated glycosaminoglycan release from cartilage explants stimulated by catabolic factors. *FEBS Letters* 2003; 555: 431-6.
30. Yoshioka M, Shimizu C, Harwood FL, Coutts RD, Amiel D. The effects of hyaluronan during the development of osteoarthritis. *Ost Cart* 1997; 5: 251-60.