



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ KANUNİ SULTAN
SÜLEYMAN SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ**

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOğİ KLİNİğİ

**N-ASETİLSİSTEİN'İN RATLARDA OLUşTURULAN DİZ
OSTEOARTRİTİNE KARşI TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ:
HİSTOPATOLOğİK VE BİYOKİMYASAL ALIřMA**

Dr. Sabri Kerem Diril

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL /2021



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ KANUNİ SULTAN
SÜLEYMAN SAğLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİğİ

**N-ASETİLSİSTEİN'İN RATLARDA OLUŞTURULAN DİZ
OSTEOARTRİTİNE KARŞI TEDAVİ EDİCİ ETKİSİ:
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA**

Dr. Sabri Kerem Diril

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cemil Ertürk

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL /2021

Evrak Tarih ve Sayısı: 02/04/2019-E.10842

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 46418926-010.99

Konu : Dr. Sabri Kerem DİRİL'in Tez Onayı Hk.

İSTANBUL KANUNİ SULTAN SÜLEYMAN S.U.A.M.

Hastanenizde Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinde uzmanlık öğrencisi olan Dr. Sabri Kerem DİRİL'in tez konusu uygun bulunmuş olup onay formu ve 2 (iki) adet hakem değerlendirme formu Ek'te sunulmuştur.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Ali İhsan TAŞÇI

Dekan V.

TEŞEKKÜR

Eğitimime ve klinik pratiğime beş yıl boyunca emek veren, tez danışmanım ve kliniğimizin eğitim sorumlusu olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Cemil Ertürk'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

İhtisas eğitimim boyunca benden deneyimlerini, desteğini ve sabrını esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Deniz Gülabi ve Doç. Dr. Sinan Erdoğan hocalarım öncelikli olarak çalışma fırsatım olan tüm hocalarıma en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık hayatıma başladığım ilk günden bu yana beraber çalışırken bilgilerini ve tecrübelerini aktaran, desteklerini hep hissettiğim, eğitimime katkı sağlayan klinik uzmanlarımızın her birine ayrı ayrı teşekkürlerimi ve minnetimi sunarım.

Asistanlık yıllarım boyunca isimlerini buraya yazmakla bitiremeyeceğim, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum tüm asistan hekim arkadaşlarıma, bana her zaman sevgi ve saygı göstermiş, yardımcı olmuş hastanemizin tüm hemşire, personel ve sekreterlerine teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, bana koşulsuz ve şartsız ellerinden gelebileceğinin çok daha fazlasını sunan, haklarını hiçbir şekilde ödeyemeyeceğim ailem; Nazan Diril, Yusuf Diril ve Enes Diril'e sonsuz şükran ve sevgimle teşekkür ederim.

Son olarak asistanlık hayatımın son zamanlarında ve bu tezin yazılma süresince bana büyük bir sabır göstermiş, sevgisini ve desteğini her zaman hissettiğim hayat arkadaşım Dr. Merve Kahraman'a en derin sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Sabri Kerem Diril

İstanbul /2021

İÇİNDEKİLER

DEKANLIK ONAYI.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
KISALTMALAR.....	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
TABLO VE GRAFİK LİSTESİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	I X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OSTEOARTRİT.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.1.3. Etyoloji.....	4
2.1.4. Risk faktörleri.....	6
2.1.5. Sınıflama.....	8
2.1.6. Patoloji.....	9
2.1.7. Biyokimya.....	13
2.1.8. Tedavi.....	18
2.2. NAC.....	19
2.2.1. Tarihçe.....	19
2.2.2. Farmakodinamik.....	21
2.2.3. Farmakokinetik.....	21
2.2.4. Etki mekanizması.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. DENEY HAYVANLARI VE MALZEME LİSTESİ.....	24
3.2. EKLEMİÇİ ENJEKSİYON.....	25
3.3. NAC UYGULAMASI.....	26
3.4. DENEYİN SONLANDIRILMASI.....	26

3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	28
3.5.1. Apoptozun değerlendirilmesi.....	29
3.5.2. Safranin-o/fast green yöntemi.....	30
3.6. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	32
3.7. İSTATİSTİKSEL İNCELEME.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	33
4.1.1. Mikroskopik bulgular.....	33
4.1.2. Apoptoz Bulguları.....	34
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA.....	49
6. ÇIKARIM.....	56
KAYNAKÇA.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	68

KISALTMALAR

NAC	: N-Asetilsistein
OA	: Osteoartrit
MIA	: Monosodyum İodoasetat
IL	: İnterlökin
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
ROS	: Reaktif Oksijen Spesmen
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
GAG	: Glukozaminoglikan
NO	: Nitrik Oksit
NSAİ	: Non-Steroid Antienflamatuar
NAPQI	: N-acetyl-p-benzoquinone imine
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
-SH	: Doğal tiyol
-SH + -SS-	: Toplam tiyol
TF	: Tibiofemoral
PF	: Patellofemoral
H&E	: Hemotoksilen Eosin
IMA	: İskemik modifiye albümin
PRP	: Trombositten zengin plazma
JIA	: Juvenil idiyomatik artrit
DTDH	: Dinamik tiyol/disülfid homeostazisi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Radyolojik Olarak OA Evreleri

Şekil 2: Biyomekanik ve biyokimyasal stres ile OA ilişkisi

Şekil 3: ROS'un diz eklemine biyokimyasal etkileri

Şekil 4: İntraperitoneal anestezi işlemi

Şekil 5: Enjeksiyon sahasının sterilizasyon

Şekil 6: Patellar tendon işaretlenmesi

Şekil 7: Eklem içi enjeksiyon

Şekil 8: İntrakardiyak kan alımı

Şekil 9: Disseke edilen diz eklemi

Şekil 10: Kontrol grubu, H&E, Medial femoral kondil ve medial tibial plato. Kıkırdak yüzeyi düzenli, hücre dağılımı ve kalınlık normal

Şekil 11: Tedavi almayan grup, H&E bulguları. A. Fibrozis (yıldız) bulguları. B-C. Kıkırdak yüzeyinde derin zona kadar uzanan fissür (ok). D. Disorganizasyon bulguları.

Şekil 12: Tedavi grubu, H&E bulguları. Histopatolojik bulguların şiddetinde MIA grubuna göre belirgin olarak azalma, Genel olarak eklem yüzeyinde hafif – orta şiddette düzensizlik, superfisiyal yüzeye uzanan fissürler (ok).

Şekil 13: Safranin-O bulguları. A. Kontrol grubu. B. Tedavi almayan grup. C-D. Tedavi grubu. Tedavi almayan grupta, kontrol gruba göre belirgin safranin boyamasında azalma mevcuttur.

Şekil 14: TUNEL yöntemi bulguları. A. Kontrol Grubu, genel olarak kontrol grubunda az sayıda TUNEL-pozitif kondrositler izlendi. B. Tedavi almayan grup. C. Tedavi alan grup. D. Tedavi alan grup

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

Tablo 1: OA'da biyokimyasal değışiklikler

Tablo 2: Modifiye Mankin Skorlaması

Tablo 3: Tiyo/Disüfit Homeostazi

Tablo 4: Biyokimyasal ve histopatoloji parametrelerine ilişkin bilgiler

Tablo 5: Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerin değlendirilmesi

Tablo 6: Gruplar arasında histopatoloji parametrelerinin değlendirilmesi

Grafik 1: Grupların native thiol ve total thiol ortalamaları

Grafik 2: Grupların disüfit ortalaması

Grafik 3: Grupların (Disüfit/Native thiol)*100 ve
(Disüfit/Total thiol)/100 değlerinin ortalamaları

Grafik 4: Grupların (Native/Total thiol)*100 değlerinin ortalamaları

Grafik 5: Grupların IMA(ABSU) değlerinin ortalamaları

Grafik 6: Grupların Mankin skor değlerinin ortalamaları

Grafik 7: Grupların Apoptotik indeks (%) değlerinin ortalamaları

ÖZET

Amaç: Bu çalışmamızda, oral N-asetilsisteinin (NAC) osteoartrit (OA) tedavisinde etkinliğini araştırmayı planladık. Bu nedenle, karşılaştırmalı hayvan deneyi çalışmasında; monosodyum iodoasetat (MIA) ile ratlarda oluşturulan OA modelinde NAC'ın terapötik etkisini histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ortalama ağırlıkları 300-350 g (5-6 aylık erişkin rat) olan Hannover ırkı 21 adet Wistar erkek sıçan kullanıldı. Ortalama ağırlıklarına göre 7'şer adetten üç gruba ayrıldı. MIA+NAC uygulanan (A grubu) tedavi grubu, sadece MIA uygulanan (B grubu) tedavi almayan grup ve kontrol grubu (C grubu) olarak üç gruba ayrılmıştır. A ve B grubunun sol dizlerine MIA uygulanmışken, C grubunun sol dizlerine aynı miktarda serum fizyolojik uygulandı. A grubu 30 gün süre ile oral NAC verilirken, B grubuna aynı miktarda oral distile su verildi. 30 günün sonunda tüm gruplardaki ratlar sakrifiye edilerek sol diz eklemleri ve kan örnekleri alındı. Diz eklemlerinin histopatolojik incelemeleri Modifiye Mankin Skorları ve apoptoz indeksi ile değerlendirildi. Kan örneklerinde ise dinamik tiyol/disülfid homeostazisi (DTDH) ile oksidatif stres değerlendirildi.

Bulgular: Gruplar arasında histopatolojik olarak Modifiye Mankin Skorları ve apoptotik indeks değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p:0.001$). NAC ile tedavi edilen grupta OA gerileme görülmüştü. Buna karşın, biyokimyasal değerlendirmede DTDH da gruplar arasında herhangi bir fark görülmedi ($p>0.05$).

Çıkarım: Deneysel olarak MIA ile oluşturulmuş OA rat modelinde, oral NAC tedavisinin histopatolojik olarak anlamlı düzelmeler görülmüşken; biyokimyasal değerlendirmede önemli bir fark görülmedi. Sonuçta, NAC tedavisinin gelecekte OA tedavisinde yardımcı bir tedavi modalitesi olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Osteoartrit, Monosodyum İodoasetat, N-asetilsistein

ABSTRACT

Aim: In this study, we planned to investigate the effectiveness of oral N-acetylcysteine (NAC) in the treatment of osteoarthritis (OA). Therefore, in the comparative animal experiment study; We aimed to evaluate the therapeutic effect of NAC histopathologically and biochemically in the OA model created in rats with monosodium iodoacetate (MIA).

Materials and Methods: In the study, 21 Wistar male rats of Hannover breed with an average weight of 300-350 g (5-6 months old adult rat) were used. They were divided into three groups of 7 each according to their average weight. The MIA+NAC applied (group A) treatment group was divided into three groups as the MIA-only (B group) treatment group and the control group (C group). While MIA was applied to the left knees of groups A and B, the same amount of saline was applied to the left knees of group C. Group A was given oral NAC for 30 days, while group B was given the same amount of oral distilled water. At the end of 30 days, rats in all groups were sacrificed and their left knees and blood samples were taken. Histopathological examinations of the knee joints were evaluated with Modified Mankin Scores and apoptosis index. Oxidative stress was evaluated with dynamic thiol/disulfide homeostasis (DTDH) in blood samples.

Results: A statistically significant difference was found between the groups in terms of histopathologically Modified Mankin scores and apoptotic index values ($p:0.001$). OA regression was seen in the group treated with NAC. On the other hand, there was no difference between the groups in DTDH in the biochemical evaluation ($p>0.05$).

Conclusion: In the experimentally created OA rat model with MIA, histopathologically significant improvements were observed with oral NAC treatment; No significant difference was observed in the biochemical evaluation. In conclusion, we think that NAC therapy can be used as an adjunctive treatment modality in the treatment of OA in the future.

Keywords: Osteoarthritis, Monosodium Iodoacetate, N-Acetylcysteine.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoartrit (OA) çok sayıda kişileri etkileyen önemli derecede sakatlığa neden olan dejeneratif ve sistemik bir hastalıktır. Diz ise OA'nın en sık görülen eklemidir. Başlangıç bulguları eklem kıkırdağında bozulma, sinovit, subkondral kemikte skleroz ve osteofit oluşumu görülen enflamatuvar hastalığın karakteristiği henüz tam olarak anlaşılamamıştır (1). Enflamasyon sürecinde kıkırdakta apoptoz, proteaz salınımı ve interlökin (IL) -1 β ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α gibi enflamatuvar sitokinlerin üretildiği görülmektedir (2). En olası nedenlerden birisi kartilajın oksidatif hasarıdır (3). Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen spesmenler (ROS); lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve nükleik asit hasarı gibi birçok nedenlerle hücrenin hem yapısında hem de metabolik işlevlerinde değişikliğe neden olabilir (4).

Değişik hayvan modelleriyle insandaki OA'nın deneysel olarak taklit edilmesi amaçlanarak hastalığın patogenezi ve tedavi modaliteleri araştırılmıştır (5). Tedavisinde ise cerrahi tedavilerden önce ameliyatsız yöntemler mutlaka denenmelidir. Ameliyatsız tedaviler içerisinde nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar, nutrisyonel tedaviler, egzersiz ve fizik tedavi modaliteleri ve zayıflama yöntemleri başlıca kabul görmüş uygulamalardır (6). Bunun yanında yeni tedavi yöntemleri hala araştırılmaktadır (7).

N-asetilsistein (NAC) daha çok solunum sistemi rahatsızlıklarında ve asetaminofenin fazla dozda alınımında hepatotoksik etkisini azaltmakta kullanılan bir ilaçtır (8). Ayrıca NAC tiyol grubuna bir amino asit molekülü olup, antioksidan özelliklere sahiptir. Ek olarak, NAC, hücreye plazma membranından girerek ve hücre içi glutatyon oluşturmak için glutamik asit ve glisin ile reaksiyona girerek dolaylı bir antioksidan görevi görebilir (9). Etkinliğini hücre içerisinde glutadyon seviyesini artırarak direk olarak ROS'ları imha ederek hücre içerisindeki oksidatif stresi kontrol edebilmektedir (10). Son zamanlarda yapılan in vitro hücre kültürü çalışmalarında NAC kondrosit içerisindeki ROS'u azaltarak glutadyon rezervini artırdıkları ve sitotoksititeyi azaltarak kondrosit hücre aktivitelerini düzelterek antienflamatuvar bir ajan olarak kullanılabileceğini gösterilmiştir (11). Bu nedenle NAC molekülünün OA'da oksidatif stresi azaltarak, hastalığın etyopatogenezindeki en önemli faktörleri ortadan

kaldırmasıyla tedavi edebileceğini deneysel çalışma ile göstermeyi amaçlamaktayız. Bununla birlikte, İngilizce literatürde NAC'ın monosodyum iodoasetat (MIA) ile oluşturulan OA modelinde tedavi edici etkisini gösteren bir deneysel çalışmaya henüz rastlamadık.

Ratlarda OA modeli oluşturduktan sonra oral NAC ile OA'ı tedavi etmeyi planladık. NAC'ın terapötik etkisini doğrulamak için, karşılaştırmalı deneysel çalışmada diz eklemine histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık. Ayrıca biyokimyasal analizde, uygulanan NAC tedavisinin antioksidan özelliğini, serumundaki örneklerde: dinamik tiyol/disülfid homeostazisi (DTDH) ile oksidatif stresi ölçerek; OA'da tedaviye yanıtı ölçmek istedik.

2. GENEL BİLGİ

2.1. OSTEOARTRİT

2.1.1. Tanım

OA, küçük eklemler (eldekiler gibi) ve büyük eklemler (diz ve kalça eklemleri gibi) dahil olmak üzere bir veya birkaç diartrodial eklemi etkileyen en yaygın dejeneratif eklem bozukluğudur. Klinisyenler, on sekizinci yüzyılın sonlarına kadar OA'yı tanımıyordu ve daha fazla isimlendirme karışıklığı, romatoid artrit ile aynı antite olarak kabul edildiğinden, tanınmasını geciktirdi (12,13). Dejeneratif eklem hastalığı, birincil OA, aşınma ve yıpranma artrit veya yaşa bağlı artrit olarak da bilinen OA, Amerika Birleşik Devlet'inde (ABD) ve dünya çapında önde gelen bir sakatlık nedenidir (14). Klinisyenler artrit kelimesini eklem iltihabı anlamında kullanırlar. Halk sağlığı sektörlerinde artrit, eklemleri, eklemleri çevreleyen dokuları ve diğer bağ dokularını etkileyen 100'den fazla romatizmal hastalık ve durumu belirtmek için kullanılan genel bir terimdir (15).

Bugüne kadar OA'nın tedavisi zor olmaya devam etmektedir ve tanımları, risk faktörleri ve patofizyolojisi hala gelişmektedir (16) Kardinal belirtiler arasında ağrı, geçici sabah tutukluğu ve eklem hareketlerinde krepitasyon (eklemde oluşan gıcırdama sesi veya hissi), dengesizliğe ve fiziksel sakatlığa yol açarak yaşam kalitesini bozar. OA, birincil ve ikincil (travma, eklem yapılarında ameliyat ve doğumda anormal eklemler gibi kabul edilen nedensel faktörlere atfedilmesine dayanarak) olarak sınıflandırılabilir. Birincil OA, artan yaş ve obezitenin en belirgin olduğu risk faktörlerinin kombinasyonundan kaynaklanır. Diğer risk faktörleri diz dizilim bozukluğu, eklemlerin artan biyomekanik yükü, genetik ve son zamanlarda önerildiği gibi düşük dereceli sistemik inflamasyonu içerir (17).

OA, diz eklemine 3 kompartmanını (medial, lateral ve patellofemoral eklem) etkiler ve genellikle günlük yaşam aktivitelerini engelleyerek 10-15 yıl içinde yavaş yavaş gelişir (18). Geleneksel olarak, eklem kıkırdağı hastalığının yalnızca “aşınma ve yıpranma” olarak yorumlanıyorken sadece yaşlanma ve iltihaplanma ile

ilgili değildi. Hastalığın patofizyolojisi halen tam olarak anlaşılmamış ve araştırılmakta olmasına rağmen, diz OA'sının köken olarak multifaktöriyel etyolojileri içerdiği kabul edilmektedir (15). Hastalığın patofizyolojisi halen tam olarak anlaşılmamış ve araştırılmakta olmasına rağmen, diz OA'sının köken olarak multifaktöriyel olduğu kabul edilmektedir. Hem inflamatuvar hem de biyomekanik tüm organ hastalığı süreçleri önemli bir rol oynamakla birlikte, diz OA'yı ayrıca aile öyküsü, yaş, obezite, diyabet, sinovit, sistemik inflamatuvar mediatörler, doğuştan gelen bağışıklık, alt ekstremitte dizilimi, eklem gibi faktörlerin bir kombinasyonundan etkilenir (19,20).

2.1.2. Epidemiyoloji

Diz OA'yı 65 yaş ve üzeri yetişkinlerin çoğunu etkiler ve ABD'de %33.6 (12.4 milyon) prevalansı vardır (21). Kadınlar erkeklerden (%31.2) daha yüksek prevalansa (%42.1) sahiptir (18). Radyografik diz OA'yı olan kadınların erkeklerden daha fazla semptom gösterme olasılığı daha yüksektir ve Afrikalı Amerikalılar genellikle beyazlardan daha fazla diz ve kalça semptomları bildirmektedir (22). OA için prevalans ve insidans tahminleri, vaka tanımındaki ve incelenen eklem bölgelerindeki farklılıklar nedeniyle büyük ölçüde farklılık gösterir (23).

Yorucu fiziksel aktivite, özellikle diz çökme, diz bükme, çömelme ve uzun süreli ayakta durma gerektiren aktiviteler ve ayrıca diz travması ve yaralanması da semptomatik diz OA prevalansının yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir (24). Diz OA'sı, diğer OA türlerine kıyasla daha yüksek bir prevalans oranına sahiptir (25). Diz OA insidansı, özellikle obez kadınlarda, hem yaşla hem de daha uzun yaşam daha da artmaktadır (26). Ayrıca, obezite prevalansının düşmesi muhtemel değildir ve muhtemelen diz OA insidansını ve diz artroplastisine olan talebi artıracaktır (27). Diz OA'sının düşük frekanslarda uzun süredir var olduğunu, ancak 20. yüzyılın ortalarından beri hastalığın prevalansının iki katına çıktığı bildiriliyor (28).

2.1.3. Etyoloji

OA'yı incelediğimizde izole kemik-kıkırdak hastalığı olmayıp eklemde kıkırdakların tutarak tüm eklemde dejenerasyona sebep olan bir hastalık olduğu görülmektedir. Kıkırdak harabiyetinin yanı sıra sinoviyal inflamasyon, osteofit oluşumu, bağ gevşekliliği, eklem çevresi kas güçsüzlüğü tablosu ile seyrettiği görülmektedir (29). 40 yaşından gençlerde OA gelişimi oldukça nadir görülmektedir (20). 40 yaşından itibaren prevelansta artış mevcuttur (30). Diz OA'sı yaşla yakından ilişkilidir, çünkü OA'nın radyografik kanıtı 65 yaş üstü kişilerde ve 75 yaş üstü kişilerin %75'inden fazlasında görülür (16).

OA gelişim seyri tek bir sebep etrafında değildir çok faktörlüdür. Eklem bütünlüğü, genetik yatkınlık, lokal inflamasyon, mekanik kuvvetler ile hücrel ve biyokimyasal süreçler dahil olmak üzere yapısal ve mekanik faktörlerin karmaşık etkileşimi sürece katkı sağlamaktadır (31,32,33). Kadınlarda erkeklerden fazla görülmekte, obezite, yaş ve ikincil sebeplerden en sık diz yaralanmalarını takiben diz OA'sı gelişir (18,34). Mekanik faktörlerin yanında matriks yapısının değişiklikleri, hücrel aktivitenin değişiklikleri, mediatörlerin salınımının değişiklikleri, eklem biyomekaniğinin değişiklikleri ve immün sistemin yanıtının rol oynadığı düşünülmektedir.

OA ile eklem kullanımı, yaşlanma ve eklem dejenerasyonu arasında kesin bir ilişki gösterilememiştir. Yaşlanma ile oluşmuş eklem değişimleri ile OA'daki değişimlerin aynı olmadığı görülmektedir. Hayat boyu diz eklemine kullanılmış olması, bir dejenerasyon sebebi olmadığı bilinmektedir (35).

Obezitenin halk sağlığı sorunu olması ve yaşlı insan popülasyon oranının giderek artması ile diz OA'lı hasta sayısında artışların olması kaçınılmaz gözükmemektedir (36). Obezite (vücut kitle indeksi) ile diz OA prevalansı ve insidansı arasında bir ilişki, çeşitli kesitsel ve uzunlamasına çalışmalarda tutarlı bir şekilde gösterilmiştir. Aşırı kilo, eklem yükünü artırarak ağırlık taşıyan eklemler üzerinde zararlı etkilere yol açmasının yanında inflamasyonla ilgili olumsuz etkileri olan vücut kompozisyonundaki değişiklikler,

azalan fiziksel aktivite ve bunu müteakip koruyucu kas gücü kaybı gibi davranışsal faktörler gibi birden fazla mekanizma ile diz OA riskini arttırır (37,38).

Birincil OA : İdyopatiktir.

İkincil OA : Sebebi belli olan nedenlerle gelişir.

- Travmatik Nedenler (en sık): Eklem ilişkili kırık veya osteonekroz, eklem ameliyatları (menisektomi v.b.)

- Biyolojik Nedenler: Okronosis, hemakromatozis v.b.

- Anatomik Nedenler: Epifizyel displaziler, kalçanın doğumsal çıkığı, alt ekstremitte boy farklılığı, slip lezyonlar, Perthes Hastalığı v.b.

- İnflamatuvar Nedenler: Septik artrit, inflamatuvar artropatiler v.b.

2.1.4. Risk Faktörleri

Farklı risk faktörlerinin ortak bir patolojik yolağa neden olarak heterojen bir durum oluşturur, bu durum yalnızca eklem kıkırdağını değil, subkondral kemik, bağlar, kaslar, menisküs, sinoviyum, kapsül ve eklem sıvısı dahil olmak üzere eklem tamamını içerir (39). Risk faktörlerini ele aldığımızda, birincil faktörler olarak ileri yaş, obezite, büyük eklem travması, kadın cinsiyet, genetik yatkınlık, yük dağılım dengesizliği ve beslenme olduğu düşünülmektedir (40,41,42). Obezite ve OA'nın birbiri ile ilişkisinin kuvvetli olduğu görülmüştür (41,43). Alt ekstremitte dizilimi ve biyomekaniği, eklem şekli, displazi gibi nedenlerin yanı sıra inflamatuvar hastalıklar da OA'da değerlendirilmesi gereken risk faktörlerindendir (15). Eklem kıkırdak hasarları, ön çapraz bağ yaralanması ve menisküs yaralanmaları/yırtıklarının, ileride oluşabilecek OA ile bağlantılı olduğu görülmüştür. Meslek gruplarının bazılarında müzmin travmalar nedeni ile OA için risk faktörü olduğu düşünülmektedir (44). D vitamini, kıkırdak ve kemik fizyolojisi ve turnoverı için önemlidir. Bu sebeple de eksikliği OA için risk faktörü olarak değerlendirilmektedirDiz eklem kıkırdak metabolizmasındaki onarım ve yıkım ilişkisindeki dengenin yıkım lehine baskın hale gelmesi sonucu OA gelişimi kaçınılmaz olmaktadır (45). OA hastaları incelendiğinde fiziksel aktivite kapasitelerinin

düşük olduğu görülmektedir (46). Seyri uzun olan ve yıllar içinde gelişen bir hastalık paternidir (47). Östrojen yoksunluğuna sebep olabilen menapoz, ovarektomi ve glukokortikoidleri içeren ilaçların da OA oluşumunda riski arttıran sebepler olduğu gösterilmiştir (48). Kas güçsüzlüğü de OA gelişiminde risk faktörü olduğu ve diz OA'sında kuadriseps kas güçsüzlüğünün sürece katkısı olduğu düşünülmektedir (46). Hastaların radyolojik görüntülemeleri değerlendirildiğinde eğer OA'ya ait bulgular varsa hastanın şikayeti olmasa bile ilerde OA şikayetlerinin oluşabileceğine dair radyolojik bulgular risk faktörü olarak değerlendirilmelidir (49). Sigara kullanımının OA riskinde artışa sebep olduğunu destekleyen çalışmalar yanında sigara kullanıcılarında nikotinin etkisi ile kıkırdak glukozaminoglikan (GAG) ve kollajen sentez aktivitesini fizyolojik değerlerinde artışa neden olduğunu gösteren yayınlar da bulunmaktadır (50).

Tüm risk faktörleri değerlendirildikten sonra OA'nın erken tanı ve tedavisi için idrar, sinovyal sıvı gibi biyolojik yapılar incelenmiş ama, henüz etkin ve güvenilir bir biyobelirteç bulunamamıştır (51).

Risk faktörleri;

1-Yaş

2-Cinsiyet

3-Obezite

4-Genetik faktörler

5-Osteoporoz

6-Eklemler bozuklukları ve travma

7-Mesleki zorlanmalar

8-Spor aktiviteleri

9-Sigara

10-Diğer hastalıklar

2.1.5. Sınıflama

Birincil OA: Genellikle herediterdir. Heberden nodülleri görülen birincil generalize OA kadınlarda baskın, erkeklerde çekinik olan otozomal bir gen ile taşınır. Nodüllerin eşlik etmediği generalize OA ise poligenik bir geçiş gösterir. Generalize OA'da HLA A1 ve HLA B8'in artmış sıklıkta görülmesi genetik yatkınlığında etkili olduğunu düşündürmektedir (52).

İkincil OA: Etyolojik bir sebebe bağlı

- Anatomik: Femoral epifizin kayması, epifizyel displaziler, perthes hastalığı, gelişimsel kalça çıkığı, bacak boy eşitsizliği, hipermobilite sendromları
- Travmatik: Büyük eklem travması, eklemiçi kırık veya osteonekroz, varlığı, mesleğe bağlı müzmin yaralanmalar
- Metabolik: Okronosis, akromegali, hemakromatozis, Ca kristal depo hastalığı
- İnflamatuvar: Septik artrit, tüm inflamatuvar artropatiler

Birincil OA idiopatik kabul edilmektedir ve insidansı yaşla birlikte artar. Birincil OA, sıklıkla poliartiküler ve yıkım ile seyrenden artrittir. Birden fazla eklemi tutan ve 35 yaşından önce şikayet oluşturan çok nadir görülen OA tipidir (53).

Radyografik görüntülemeler tanı koymada, tedavi plan ve izleminde kullanılmaktadır. OA radyolojik olarak da çekilmiş ön-arka diz radyografileri sonrasında sınıflandırılabilir (Şekil 1). Kellgren-Lawrence sınıflandırmasında çekilmiş ön-arka diz grafileri 0'dan 4'e kadar radyolojik patolojinin ilerlemiş olmasına bağlı sınıflandırılır. Evre 0 radyolojik olarak OA bulunmadığını, Evre 4 son evre, ileri OA bulunduğunu tanımlar (54).

Kellgren-Lawrence sınıflandırması:

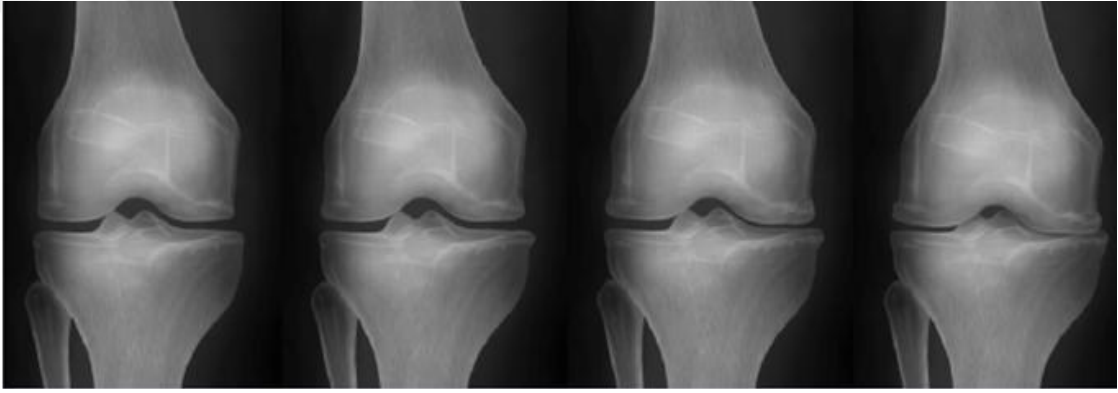
Grade 0: Normal radyolojik bulgular.

Grade 1: Minimal osteofit ve şüpheli bulgular.

Grade 2: Belirgin osteofitler, eklem aralığı normal.

Grade 3: Eklem aralığında orta düzeyde daralma.

Grade 4: Eklem aralığında ileri düzeyde daralma ve subkondral skleroz.



Şekil 1: Radyolojik Olarak OA Evreleri

2.1.6. Patoloji

Hyalin eklem kıkırdağında erozyon ve kayıp olması, OA'da esas patolojidir. Fakat son yıllarda diz eklemi tamamını etkileyen bir hastalık olarak yeniden tanımlanmıştır. Çünkü eklem çevresi kas, bağ doku, sinovyum, sinir doku ve kemikte tutulumlar ve lezyonlar saptanmıştır. OA sıklıkla eklem kıkırdağının progresif karakterde erozyonu ve buna isinaden oluşan eklem kıkırdağını iyileştirme çabası, yeniden şekillendirme, subkondral skleroz, subkondral kist oluşumu ve osteofitler ile karakterizedir (55). OA ilerledikçe eklem kapsülünde ve sinovya hipertrofi ve genişleme gözlenir.

Erken evre:

- Kıkırdakta bozunma
- Minimal inflamasyon

Geç evre:

- Kıkırdak dokusunda inflamasyon
- Osteofit
- Subkondral skleroz, kemik kisti

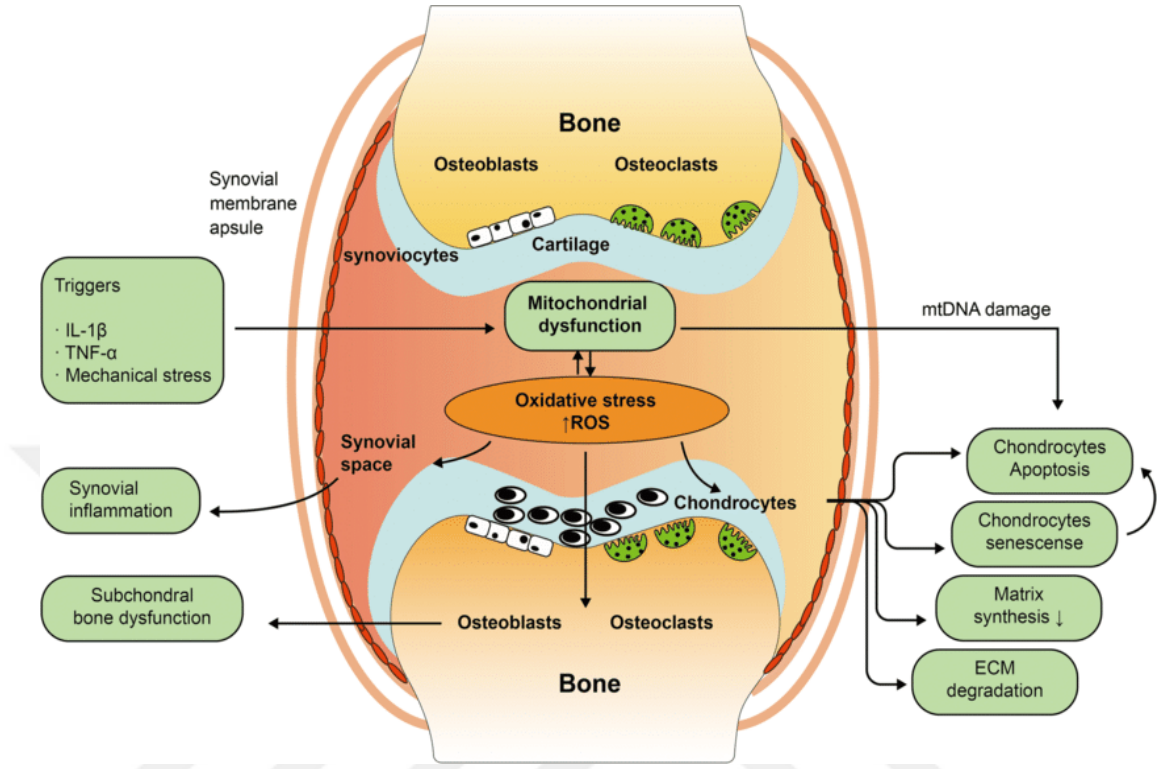
Tamir ve yeniden şekillendirme kapasitesinden ötürü, eklem kıkırdağındaki yıkım her diz eklemine aynı progresyon ile ilerlemez veya tamir ile düzelme görülebilir (56). Ekstrasellüler matriks yapıları yaşa bağlı olarak değişimlere uğrar ve ekstrasellüler matriksin biyomekanik özellikleri değişir (57). Osteoartritik eklemde sadece kıkırdakta değil subkondral kemikte de değişiklikler olur, kollajen tip I yükselir, ancak bu kollajen içeriği anormaldir ve bu anormal mineralizasyona neden olur (58).

Yakın zamanlı çalışmalarda OA patogenezinde inflamatuvar süreçlerin başrol oynadığı düşünülmektedir (59). Sistemik ve lokal inflamatuvar yollarının OA olan eklemde erozyonu arttırdığı düşünülmektedir (45). Lokal inflamatuvar maddelerin oluşması, proteolitik enzimlerin serbest kalması sonucu artış göstermektedir (60). Yakın zamanlı diğer bir çalışmada, OA'da makrofajların uyarılması lokal olarak sinoviyal dokuda, sistemik olarak da kan serumunda gerçekleştiği saptanmıştır (61). Erken evre OA ile geç evre OA mukayese edildiği bir çalışmada mononükleer hücre infiltrasyonu ve inflamasyon mediatörleri artışı gösterilmiştir (62). OA'nın patolojik durumunda yer alan faktörler arasında kıkırdakta apoptoz, proteazların salınımı ve IL-1 β ve TNF-a gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimi yer alır (Şekil 2)(63).

Yalnızca ilerleyen yaşa bağlı olmamakla beraber OA patogenezi, eklem kıkırdak dokusunda dengede olan yapım ve yıkımın, yıkım yönüne bozulması rol oynar. Gençlerde ise travma sonrasında OA'da, artmış olan mekanik stresin oksidatif stres

yolağı ile kıkırdak dokuda dejenerasyonu desteklediğı düşünölmektedir (64). Oksidatif stres hücresele yaşlanmayı ve özellikle kıkırdak doku dejenerasyonu teşvik edebilir (31).

Kondrositlerin apoptozunun OA'nın şiddeti ile korele olduğı ve hastalığın ilerlemesinde rol oynadığı bildirilmiştir (65). Kondrositlerin apoptozunun, nitrik oksit (NO) dahil olmak üzere çeşitli uyaranlara yanıt olarak meydana geldiğı bildirilmiştir. NO, OA kıkırdağında yüksek seviyelerde bulunur ve OA'nın ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğı bildirilmiştir (66). Bu etkilerle ilgili mekanizmalar üzerine yapılan çalışmalar, NO'in ROS ile etkileşime girdiğinde hücre hasarının meydana geldiğini göstermiştir. Eksojen NO, hücreler içinde ROS'i indükleyerek sitotoksositeye neden olur (67). Ayrıca, NO güçlü sitotoksik peroksinitrit oluşturmak için ROS süperoksit anyonlarıyla kolayca reaksiyona girer (68). Elde edilen ROS'e verilen hücresele tepkiler, hücredeki indirgeme oksidasyon durumuna bağılı olabilir. Oksidan miktarları hücrenin indirgeme kabiliyetini aşamaz ise ROS sinyal iletimi gibi fizyolojik fonksiyonlarda görev alır (69). Ancak ROS seviyeleri hücrenin antioksidan kapasitesini aştığında hücre oksidatif strese maruz kalır. Sonuç olarak ROS, hücredeki DNA, protein ve diğere moleküllere zarar verir ve sonunda apoptoza yol açar (70).



Şekil 2: ROS'un diz eklemine biyokimyasal etkileri (138).

2.1.7. Biyokimya

OA hücrel olarak ele alındığında; kondrositlerin yıpranmış kıkırdak dokusunu tamir edememesi mekanizması kaynaklı başlar (71). OA oluşmuş kıkırdak doku incelendiğinde; DNA içeriğinin normal veya hafif artmış, su içeriği artmış, proteoglikan içeriği azalmış, kollajen tasnifi bozulmuş, eklemdaki kalsiyum pirofosfat ve alkalin fosfataz miktarı artmış, hücre içi kalsiyum miktarı artmış olarak görülür (55). Proteoglikanın hiyalüronik asite bağlanması (prostaglandin E'nin artması ve bağlayıcı proteinlerin artması sonucu), osteoartritik kıkırdak dokuda katepsin B ve D, metalloproteinazlar artmıştır. IL-1 enzim sentezini arttırarak yıkım sürecini hızlandırabilir; böylece kıkırdak kaybına sebep olabilir. GAG ve polisülfürik asit koruyucu rol oynar (72).

Dikkat edilmeli ki, OA'da eklemdaki biokimyasal değişimleri yaşlanma ile karıştırmamak gerekir. Yaşlanmayla eklem kıkırdağı biyokimyası ve içeriği değişir fakat bu değişimler OA'daki değişimlerden farklıdır (Tablo 1). OA olan eklemda su içeriği artar iken, yaşlı eklemda su içeriği azalır. Kollajen içeriği OA'da düzensizleşir ve kıkırdak tipi göreceli olarak kollojen Tip 4'e eğilim gösterir. OA'lı eklemda proteoglikan miktarı azalır. Yaşlanmada da proteoglikan içeriği azalır fakat bunun yanında OA'da proteoglikan sentezi ve bozulması artar iken yaşlanmada proteoglikan bozulması azalır. OA'da kondroitin sülfat konsantrasyonu artar. Yaşlanmada ise kondroitin sülfat konsantrasyonu azalır. Keratan sülfat konsantrasyonu OA'da azalır, yaşlanmada ise artar. Kondrosit büyüklüğü ve sayısı OA'da değişmez, yaşlanmada ise kondrosit büyüklüğü artar fakat sayısı azalır. Elastisite modülü yani yük altında kıkırdak dokunun şekil değiştirip eski haline gelebilmesi OA'da azalır, yaşlanmada ise artar (73).

Eklem yüzeyindeki fazla stres ve yetersiz kondrosit cevabı dejenerasyona yol açar (53). Kıkırdak yıkımının belirlenmesinde son yıllarda belirteç ölçümü çalışmaları gündemde olup deneysel artroz modelleri ve klinik çalışma grupları ile hangi molekülün belirteç olarak kullanılabileceği yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Eklem hastalıklarında belirteç değerlendirilmesinin en önemli amacı kıkırdak hasarının henüz radyolojik olarak saptanamadığı erken dönemlerde saptanabilmesidir (71). Radyolojik

olarak saptanabilen seviyede eklem kıkırdak harabiyeti çoğunlukla ileri evreye ulaşmıştır.

Son yıllarda, OA'nın izlenmesine yardımcı olabilecek biyokimyasal belirteçleri bulmak için önemli bir çaba olmuştur. Araştırma ağırlıklı olarak iki ana adaya baktı. Birincisi, tip II kollajenin C-terminal telopeptidi, kıkırdak oligomerik matriks proteini, bir kolajen tip II spesifik neoepitop, bir agrekan neoepitop, bir dizi matriks metalloproteinaz ve prokollajen tip I amino-terminal propeptid gibi kemik ve kıkırdak bozunma ürünleridir (74-78).

Olası adaylardan oluşan ikinci grup, inflamasyonun OA'da anahtar bir rol oynadığına dair artan anlayışla gün ışığına çıktı; bu, yalnızca bir “aşınma ve yıpranma” hastalığı olduğu şeklindeki tarihsel görüşten bir değişikliktir. Pro ve anti-inflamatuar ajanlar, özellikle sitokinler, hem insan hem de hayvan modellerinde OA'nın gelişimi ve ilerlemesi ile olan ilişkileri açısından incelenmiştir (79- 84).

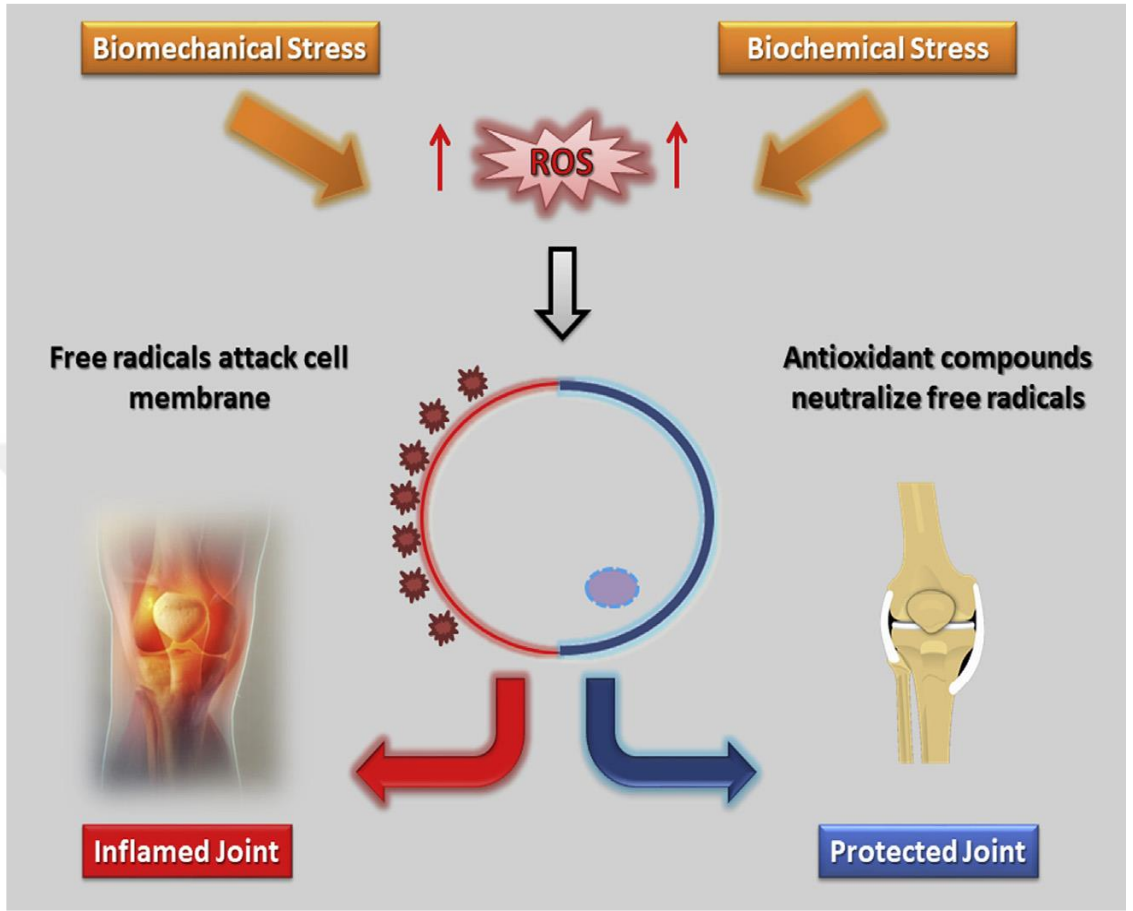
OA'nın anjiyogenez ve kemotaksi yoluyla patofizyolojisine pro- ve anti-inflamatuar rollerin (örneğin, IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-10, IL-13 ve IL-4) yanı sıra sitokinler de katkıda bulunur (85-90).

Oksidatif stres mekanizmaları ve ROS, ileri OA'da rol oynar (91). ROS, OA ilerlemesinde kıkırdak, sinovyal sıvı ve kemik dokusundaki çeşitli hücre içi ve hücre dışı sinyal mekanizmaları tarafından devreye girer (92). Oksidatif stres durumunda hücre içindeki stabilitenin korunması için ROS (Şekil 2) ve antioksidatif savunma mekanizmaları artmaktadır (93). Tootsi ve ark. (94) yaptığı çalışmada oksidatif stres indeksi ve toplam peroksit konsantrasyonun diz OA'sında OA dışı olanlardan daha yüksek olduğunu gösterdi ve ayrıca diz OA'sında toplam antioksidan kapasitesinin azaldığını bildirmiştir.

Serbest radikallerin proteinlerin kükürt içeren amino asitlerindeki –SH gruplarının oksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir ve bu protein oksidasyonunun en erken gözlemlenebilir belirtileridir (95). Hücreleri oksidatif strese karşı korumak için, hücre dışı sıvılarda suda çözünen (örneğin askorbik asit) veya yağda çözünen (örneğin E

vitamini) belirli düşük moleküler ağırlıklı antioksidan moleküller bulunur (96). Tiyoller hemen hemen tüm fizyolojik oksidanlarla etkileşim halindedir. Ve esansiyel antioksidan tamponlar olarak anılırlar. Bir kükürt atomu ve bir karbon atomuna bağlı bir hidrojen atomundan oluşan merkaptanlar olarak da bilinen tiyoller, fonksiyonel sülfhidril gruplarıdır (97). Kan plazması tiyol havuzlarının çok büyük bir kısmı esas olarak albümin ve glutatyon, tioredoksin, sistein ve homosistein gibi diğer proteinlerden oluşur (98). Proteinlerin tiyol grupları, ortamda bulunan oksijen molekülleri tarafından oksitlenir ve geri dönüşümlü olarak disülfid bağlarına dönüştürülür. Oluşan disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına indirgenebilir. Böylece tiyol-disülfid dengesi korunur (99).

Çalışmalar göstermektedir ki; DTDH'i, antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptoz, enzim aktivitesinin düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücrel sinyal iletim mekanizmalarında kritik bir rol oynar (100,101). 1979'dan beri bu çift taraflı dengenin sadece bir tarafı ölçülmüştür (102). Her iki değişken seviyesi de yeni ve otomatik bir yöntemle tek tek ve kümülatif olarak ölçülür (103).



Şekil 3: Biyomekanik ve biyokimyasal stres ile OA ilişkisi (137).

Tablo 1: OA’da biyokimyasal değişiklikler

Yapısal değişiklik	OA
Su İerięi	Azalır
Kollojen İerięi	Ciddi OA’da İerik Düzensiz
Proteoglikan İerięi	Azalır
Proteoglikan Sentezi	Artar
Proteoglikan Bozulması	Artar
Kondroitin Sülfat Konsantrasyonu	Artar
Kondroitin-4-Sülfat Konsantrasyonu	Artar
Keratan Sülfat	Azalır
Su İerięi	Azalır

2.1.8. Tedavi

Çağımızda bile OA etyopatogenezi hala tam netlik kazanmamıştır ve yıpranmış eklem kıkırdağını iyileştirmek için kesin tedavi yöntemleri bulunmamaktadır (104). Hastaların OA'lı diz eklemlerindeki ağrının azaltılması, fonksiyonun artırılması, hastalığın seyrinin yavaşlatılması ve ilerlemesinin durdurulması amaçlanmaktadır (105). OA'lı hastaların birincil şikayeti müzmin ağrıdır. Neticesinde hastaların ciddi sakatlıklarından doğan yüksek sağlık giderleri doğurmaktadır (106). Eklem kıkırdağının avasküler yapısı sebebiyle tamir mekanizması kabiliyeti sınırlıdır (107). Eklem kıkırdak dokusu avasküler olduğu gibi aynı zamanda anevraldır, yani ağrı lifleri bulunmamaktadır. Kıkırdak dokudaki değişimler ağrı oluşumu ile doğrudan ilişkili olmamakla beraber, kıkırdaktaki subkondral kemiğe uzanım gösteren lezyonun hastalarda yaygın ve ciddi diz ağrısı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (108).

İlk tercih tedavi yöntemleri cerrahi dışı tedavi yöntemlerini içermektedir (109). Cerrahi dışı tedavi yöntemleri arasında, kilo kaybı, yaşam tarzı modifikasyonu, fizyoterapi, ağrı kesiciler, non-steroid antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçlar, eklem içi enjeksiyon çeşitleri gibi ajanlar mevcuttur (110).

NSAİ ve ağrı kesici ilaçların uzun vadede ciddi gastrointestinal sistem ve kardiovasküler yan etkilere neden olduğu görülmektedir (111). Bifosfonatlar incelendiğinde, kalsifiye kıkırdak damar istilasını azaltır, subkondral kemik remodülasyonunu önler, subkondral kemik kaybını azaltır ve osteofit oluşumunu önler, osteoklast aktivitesini azaltır ve ağrı cevabını hafiflettiği düşünülmüştür fakat bununla birlikte bazı çalışmalarda bisfosfanatlar ile tedavi sonrası, insanlarda kesin bir hastalık değiştirici etki yapmadığı gösterilmiştir (112).

Ağrı yönetimi ve kontrolü diz OA'lı hastalar için çok önemlidir. Opioidler ve narkotikler, çok şiddetli OA ağrısı olanlarda ağrı kesmek ya da azaltmak niyetiyle kullanılabilir. Ağrı yönetimindeki bu ilaçların en ciddi riski ise bağımlılık riski taşımalarıdır. En sık yan etkileri ise bulantı, kabızlık ve uyku halidir (108).

Diz rehabilitasyon ve egzersiz programlarının tedavide önemli bir yeri vardır. Quadriceps ön planda olmakla beraber kas zayıflığı ve neticesinde eklem binen yükün artışı hastaların diz eklemindeki şikayetlerinde artışa sebep olmaktadır. Diz OA'sında kuadriseps kası öncelikli değerlendirilir çünkü dizin birincil stabilizatörüdür. Yinelenen eklem hareketi gerektiren veya tam eklem hareket açıklığında uygulanan egzersizler, iltihabı ve ağrıyı arttırabilir; meydana gelen ağrı nedeniyle kuvvet kazanımı az olabilir. Bu sebeple hastalara izometrik egzersizler önerilir ve bu egzersizler ağrıyı arttırmaya daha az meyillidirse sebep olurlar. Diz çevresi kaslarını güçlendirmekle beraber diz eklem hareket açıklığının arttırılması amaçlanmaktadır. Hastalara yumuşak altlı ortopedik ayakkabılar ile her gün yürümesi önerilmektedir. Bu durum dizdeki ağrıyı arttırmadan hastanın fonksiyonel durumuna olumlu katkı yaparak fiziki, psikolojik ve sosyal yapısını güçlendirir. Gerekli hallerde hastaların destek ürünleri kullanılarak dize binen yükü azaltarak fonksiyonel düzeyi arttırabilir (113,114). Eklem içi basınç diz 60 derece fleksiyonda iken en az durumdadır. Diz OA'lı hastalarda sıklıkla uygulanan egzersizler aerobik egzersizler, EHA egzersizleri, germe egzersizleri ve dirençli egzersizlerdir. Uygun ortam ve cihazların varlığında proprioseptif egzersizler, plyometrik egzersizler ve denge-koordinasyon egzersizleri de rehabilitasyon programına dahil edilmelidir. Cerrahi dışı yöntemler ile yeterli başarı sağlanamaz ise ve hasta cerrahi yöntemlere uygunluk açısından değerlendirmeye alınır (115).

2.2. NAC

2.2.1. Tarihçe

1960'lardan beri, doğal amino asit l-sisteinin N-asetil türevi olan NAC, yaygın olarak bir mukolitik ajan olarak reçete edilmiştir ve 1970'lerden beri asetaminofen zehirlenmesinin tedavisinde kullanılmaktadır (116). Bu iki terapötik etkinin altında yatan moleküler mekanizmalar iyi bilinmektedir. Özellikle, mukolitik etki, NAC'ın mukusun yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinlerindeki disülfür köprülerini kırarak viskoziteyi düşürme yeteneğinden kaynaklanır (117). NAC'ın asetaminofen zehirlenmesi üzerindeki etkisi, NAC'ın, asetaminofenin elektrofilik metaboliti olan *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine (NAPQI) gibi elektrofilik ve dolayısıyla zarar verici moleküller ile

reaksiyona giren ve bunları nötralize eden ana endojen nükleofilik peptit olan hepatik indirgenmiş glutatyonun (GSH) yenilenmesindeki etkisinin bir sonucudur (118). 1980'lerden beri NAC, oksidatif stresin hastalık durumunun başlangıcında ve ilerlemesinde rol oynadığı düşünülen hastalıkların tedavisi için de önerilmiştir (119).

NAC, küçük moleküler ağırlığa sahip bir antioksidan amino asit türevidir. Bu molekül suda çözünür, ancak hücre zarındaki organik anyon taşıyıcıları aracılığıyla hızla sitoplazmaya girebilir. N-asetil sistein, hem hücre içi hem de hücre dışı olarak bir tiyol bileşiği olarak işlev görmesine izin veren antioksidan özelliklere sahiptir (120).

Bir sistein ön ilacı ve glutatyon öncüsü olan N-asetilsistein, kronik akciğer hastalığında mukolitik ilaç gibi, asetaminofen intoksikasyonu için bir panzehir olarak, kontrast kaynaklı nefropati için renal koruyucu bir ajan olarak ve on yıllardır terapötik uygulamalarda kullanılmaktadır. Felçte hipoksik-iskemik beyin hasarı için bir antioksidandır (121-123).

NAC'in birçok organda oksidatif strese karşı koruyucu etkileri olduğu bulundu. Deneysel ve doku kültürü çalışmalarına göre NAC, serbest oksijen radikallerini temizlemede, kıkırdak yıkım sürecini yavaşlatmada, sinovyal inflamasyonu azaltmada ve ağrıyı azaltmada etkilidir (124).

NAC daha çok solunum sistemi rahatsızlıklarında ve asetaminofenin fazla dozda alımında hepatotoksik etkisini azaltmakta kullanılan bir ilaçtır (8). Ayrıca NAC tiyol grubuna bir amino asit molekülü olup, antioksidan özelliklere sahiptir. Ek olarak, NAC, hücreye plazma membranından girerek ve hücre içi glutatyon oluşturmak için glutamik asit ve glisin ile reaksiyona girerek dolaylı bir antioksidan görevi görebilir (9). Etkinliğini hücre içerisinde glutatyon seviyesini artırarak direkt olarak ROS'ları imha ederek hücre içerisindeki oksidatif stresi kontrol edebilmektedir (10). Son zamanlarda yapılan in vitro hücre kültürü çalışmalarında NAC kondrosit içerisindeki ROS'u azaltarak glutatyon rezervini artırdıkları ve sitotoksiteyi azaltarak kondrosit hücre aktivitelerini düzelterek antianflamatuar bir ajan olarak kullanılabileceğini gösterilmiştir (11).

2.2.2. Farmakodinamik

Asetilsistein, bir aminoasit olan sisteinin türevidir. Asetilsisteinin, mukopolisakaritlerin arasındaki disülfid bağlarını ayırarak (balgam içerisindeki) DNA yapılarında depolimerize edici etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmalar sayesinde balgamın yoğunluğu azaltılmaktadır. Asetilsisteinin alternatif bir mekanizması da reaktif sülfidril grubunun kimyasal radikalleri bağlama ve bu sayede detoksifiye etmesi özelliğine dayanmaktadır.

2.2.3. Farmakokinetik

Genel özellikler: NAC mukolitik ve antioksidan bir ilaçtır. Asetilsistein beyaz, kristal bir tozdur.

Emilimi: Asetilsistein oral olarak uygulandıktan kısa bir süre sonra hemen tümüyle absorbe edilir. Yüksek orandaki “ilk geçiş” etkisi yüzünden oral olarak uygulanan asetilsisteinin biyoyararlanımı çok düşüktür (yaklaşık %10).

Dağılımı: Asetilsistein maksimum plazma konsantrasyonuna 1–3 saat sonra ulaşılır. Oysa sistein metabolitinin maksimum plazma konsantrasyonu 2 nmol/l civarındadır. Asetilsistein proteinlere yaklaşık %50 oranında bağlanır. Asetilsistein ve metabolitleri organizmada üç farklı şekilde görülür: serbest olarak, zayıf disülfid bağlarıyla proteinlere bağlı olarak ve aminoasitlerin yapısının içinde. Asetilsisteinin intravenöz uygulamasının farmakokinetik açıdan incelenmesi sonucunda, dağılım hacmi (toplam) 0.47 l/kg, (azaltılmış) 0.59 l/kg, plazma klerensi (toplam) 0.11 l/saat/kg ve (azaltılmış) 0.84 l/saat/kg olarak bildirilmiştir.

Biyotransformasyonu: Karaciğerde, farmakolojik olarak aktif bir metabolit olan sistein, di-asetilsistin ve diğer karışık disülfidlere metabolize olur.

Eliminasyonu: Asetilsistein neredeyse tamamen böbrekler üzerinden inaktif metabolitlerine (inorganik sülfat, diasetilsistin) dönüşerek vücuttan atılır. Asetilsisteinin plazma yarı ömrü yaklaşık 1 saattir ve büyük oranda hızlı hepatik biyotransformasyonu tarafından belirlenmektedir. Bu nedenle karaciğer fonksiyonlarının kısıtlanması halinde

plazma yarı ömrü 8 saate kadar uzayabilir. Asetilsisteinin intravenöz uygulamasından sonra eliminasyon yarılanma süresi 30–40 dakikadır. Bunun ardından atılım, 3 aşamalı kinetik ile gerçekleşir (alfa fazı, beta fazı ve terminal gama fazı). NAC plasentayı geçer ve göbek kordon kanında tespit edilebilir. Anne sütüne geçtiğine dair bilgi bulunmamaktadır. Asetilsisteinin insan kan-beyin bariyerini geçip geçmediğine ilişkin bilgi bulunmamaktadır (125).

2.2.4. Etki Mekanizması

Yapılan çalışmalarda, oksidatif süreçleri değerlendirmek için farklı oksidanlar, substratlar ve yöntemler kullanan NAC'nin etkili antioksidan aktivitesini bildirmiştir (126-130). NAC'in geniş uygulaması sadece iyi tanımlanmış antioksidan ve radikal süpürücü aktivitesinden dolayı değil, aynı zamanda bir tiyol molekülü olarak oldukça stabil olduğundan ve düşük bir fiyata ticari olarak temin edilebilir olduğundandır. Bu gerçeklere dayanarak ve biyoyararlanımı ve güvenliği göz önüne alındığında, NAC ayrıca çeşitli in vivo çalışmalarda bir antioksidan olarak kullanılmıştır (119). İn vivo, NAC tedavisinin, oksidatif stresin farklı biyobelirteçleri tarafından ölçüldüğü gibi oksidatif süreci önlediği ve/veya engellediği bulundu (131-135). İn vivo antioksidan aktivite, in vitro koşullarda gözlemlendiği gibi NAC'nin antioksidan ve radikal süpürme mekanizması dikkate alınarak açıklanabilir. Ancak bu sadece bir basitleştirme değildir çünkü in vitro koşullarda test edilen bir bileşiğin antioksidan davranışı in vivo ile aynı değildir. İlkinde, test edilen antioksidan, radikal türler ve substrat tarafından temsil edilen basitleştirilmiş bir ortamda bulunurken, in vivo, durum daha karmaşıktır çünkü diğer enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ve ayrıca substratlar ile rekabet eden reaksiyonlar meydana gelir.

Birkaç in vivo çalışma, NAC'ın belirli koşullar altında oksidatif stresi önemli ölçüde önlediğini veya inhibe ettiğini bulmuş olsa da NAC'ın bu aktiviteyi uyguladığı açık bir moleküler mekanizma hala bilinmemektedir. Bu derleme, NAC'ın in vivo koşullarda oksidatif stresi düzenlediği moleküler mekanizmalara odaklanmaktadır.

NAC'ın in vivo antioksidan aktivitesi, en az üç farklı mekanizma ile ilişkili olabilir ve özellikle:

- 1) Belirli oksidan türlerine karşı doğrudan bir antioksidan etki.
- 2) NAC'ın glutatyon sentezinde bir yapı taşı ve hız sınırlayıcı adım olan sisteinin öncüsü olarak hareket etme yeteneğinin bir sonucu olarak dolaylı bir antioksidan etki, GSH iyi bilinen bir doğrudan antioksidan ve çeşitli antioksidan enzimlerin bir substratı.
- 3) Disülfidler üzerinde bir kırılma etkisi ve sırayla redoks durumunu düzenleyen tiyol havuzlarını eski haline getirme yeteneği (136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmaya başlamadan önce Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'una 05/2019 tarihinde başvurularak 2019-05 protokol numarası ile onay alındı. Tüm cerrahi işlemler 6343/2 sayılı kanuna, deontoloji tüzüğüne ve Helsinki Hayvan Hakları Bildirgesi kurallarına uygun olarak yapıldı. Tüm sıçanlar Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Eğitim Merkezi'nden temin edildi.

3.1. DENEY HAYVANLARI VE MALZEME LİSTESİ

Çalışmada ortalama ağırlıkları 300-350 g (5-6 aylık erişkin rat) olan Hannover ırkı 21 adet Wistar erkek sıçan kullanıldı. Altları plastik, üst kısımları tel olan, su ve besinlere ulaşımın kolay olduğu kafesler içerisine konuldu. Su ve yem ile ad libitum tarzda beslenme yapıldı. Temizlik ve bakım ihtiyaçları haftada 3 kere olacak şekilde düzenlendi. Yiyecek olarak pellet diyet, su olarak rafine edilmiş musluk suyu kullanıldı. Su otoklavlanabilir makrolon şişede verildi. Hayvanlara yapılan tüm işlemler hijyenik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Oda koşulları %50-60 nem, sıcaklık olarak 18-22 C°, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde bir ışıklandırma döngüsünde barındırıldı. 21 adet sıçan deney boyunca konvansiyonel kafeste 3 grup olarak barındırıldı.

1. Tedavi grubu (7) (OA oluşturulan + 30 gün süre ile oral NAC) (A grubu)
2. Tedavi almayan grup (7) (OA oluşturulan) (B grubu)
3. Kontrol grubu (7) (OA oluşturulmayan) (C grubu)

Deney sürecinde kullanılan ilaç ve malzemeler:

1. MIA
2. Serum fizyolojik serum
3. Ketamin
4. Ksilazin

5. İnsülin enjektörü 1mm 27G
6. Steril delikli serviyet örtüsü
7. Traş makinesi
8. Steril gazlı bez
9. Steril eldiven
10. Batikon antiseptik solüsyon
11. Parol flakon
12. NAC
13. Eppendorf tüp
14. 5 mmlık enjektör
15. Santrifüj cihazı
16. Biyokimya (sarı) tüp
17. Paraformadehit solüsyonu ile doldurulmuş saklama kabı
18. Dekalsifikasyon solüsyonu
19. Dijital seyyar röntgen cihazı
20. Cerrahi set

3.2. EKLEMİÇİ ENJEKSİYON

- Tüm gruplara ameliyathane koşullarında ketamin 1,2ml/kg, ksilazin 0.2ml-0,4ml/kg olacak şekilde intraperitoneal anestezi madde uygulandı (Şekil 4). Çimdikeleme testi ile anestezi kontrolleri yapıldı.
- Her gruptaki rat sayısı 7 olacak şekilde kilo ortalamaları baz alınarak randomize edilen sıçanlar numaralandırıldı ve kuyrukları işaretlendi.

- Araç olarak enjekte edilebilir salin kullanılarak 10 mg/ml MIA (Sigma, Saint Louis, USA) (139) konsantrasyonu hazırlandı. Uygun anesteziden sonra steril koşullarda (Şekil 5) her sıçan sırt üstü pozisyona getirildi ve sol bacak dizden 90° fleksiyona getirildi. Patellanın altında patellar ligament palpe edildi (Şekil 6) ve bu bölgeye enjeksiyon yapıldı (Şekil 7). Her sıçana 27 gauge 0,5 inçlik bir iğneli cam gaz geçirmez bir şırınga kullanılarak sol dizine 0.025 ml eklemiçi enjeksiyon uygulandı (140). İğnenin çapraz bağların içine çok fazla sokulmamasına özen gösterildi.
- A ve B grubun sol dizlerine anestezi altında ve steril koşullarda OA modeli oluşturan MIA enjeksiyonu uygulanmış iken, C grubuna aynı miktarda yine aynı koşullar altında serum fizyolojik uygulanmıştır.
- Enjeksiyon sonrası tüm grupların derlemeleri takip edilip içme sularına postop 0. Gün için 2mg/ml parasetamol ilave edilmiştir.



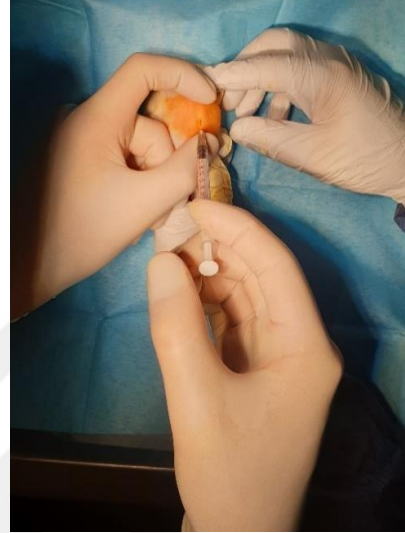
Şekil 4: İntraperitoneal anestezi



Şekil 5: Enjeksiyon sahasının sterilizasyonu



Şekil 6: Patellar tendon işaretlenmesi



Şekil 7: Eklem içi enjeksiyon

3.3. NAC UYGULAMASI

Deney modelimizde 30 gün süre ile tedavi grubumuza (A grubu) günlük 150 mg/kg NAC gavaj ile uygulandı, tedavi grubumuza (B grubu) ise günlük sadece aynı miktar (ml) serum fizyolojik gavaj ile uygulandı. Kontrol gruba (C grubu) ise gavaj uygulanmadı (141). 30 gün süre boyunca gavaj uygulaması bağlı herhangi bir komplikasyon gözlenmedi.

3.4. DENEYİN SONLANDIRILMASI

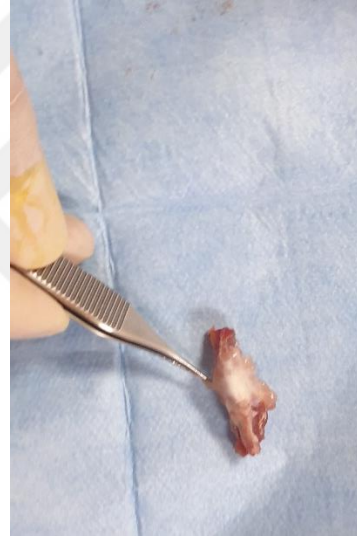
- Tüm gruplar 30. Günde yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi. Yüksek doz anestezi sonrası intrakardiyak kanlar alınıp (Şekil 8) biyokimya tüplerine transfer edilip santrifüj işlemi sonrası serum kısımları eppendorf tüplere alınarak uygun işaretlemeler ve tasnif sonrası -80° 'lik buzluğa konuldu.
- 3 gruptaki 21 adet sıçanın diz eklemleri, diz eklemi bozulmadan disseke edilerek femur distalinde ve tibia ile fibula proksimalinden osteotomize edilerek %4'lük

paraformaldehit solüsyonuna alınarak histopatolojik değerlendirme için çıkarıldı (Şekil 9).

Ötenazi sonrası her 3 grubun 21 diz eklemi biyokimyasal ve histopatolojik açıdan değerlendirildi. Refere edilmiş çalışmalara hem devam niteliği açısından hem de NAC'ın OA üzerindeki etkisinin anlaşılabilmesi açısından biyokimyasal ve histopatolojik değişimlerin analizinin yapılması planlandı.



Şekil 8: İntrakardiyak kan alımı



Şekil 9: Disseke edilen diz eklemi

3.5. HISTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Diz eklemleri, tibiofemoral (TF) ve patellofemoral (PF) eklemlerindeki eklem kıkırdığının değerlendirilmesi amacı ile PBS ile hazırlanan %4'lük paraformaldehit (pH 7.4) solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Dekalsifikasyon için dokular, Osteodec yavaş dekalsifikasyon solüsyonunda (Bio-Optica katalog no: BO-05-03005Q) 1 hafta süre ile bekletildi. Dekalsifikasyonu tamamlanan dokular, sagittal yönde eksizyon yapılarak elde edilen dokular doku takip kasetlerine konuldu. Kasetlenen doku bloğu örnekleri rutin doku takip işlemlerinden geçirildi. Tüm örneklerden Rotary Mikrotom (Leica, RM2135) ile kesitler alındı. Histopatolojik skorlama için, tüm eklem yüzeylerini içerecek şekilde (femurun lateral ve medial kondilleri ve tibial platonun incelenmesine olanak verecek

şekilde) 80 µm aralık ile elde edilen 5 µm kalınlığında 4 adet doku kesiti Hemotoksilen-Eosin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik lezyonların değerlendirilmesinde, semikantitatif histopatolojik grade sistemi olan Modifiye Mankin Skorlama sistemi (Tablo 2) kullanıldı (142). Her parametre için elde edilen değerin toplamı alınarak skor değeri belirlendi. Proteoglikan düzeyinin semi-kantitatif değerlendirilmesi amacı ile seri kesitler alınırken elde edilen doku kesitlerine Safranin O-Fast Green boyası uygulandı.

Ayrıca poly-L lysin kaplı lamlara alınan doku örnekleri apoptotik indeksin belirlenmesi amacı ile ApopTag peroxidase in situ Apoptosis Detection Kit (terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) Merck Milipore Katalog no: S7100) yöntemi ile işaretlendi.

3.5.1. Apoptozun değerlendirilmesi

TUNEL metodu ile işaretlenen lamlarda apoptotik aktivitenin belirlenmesi amacı ile hücrelerin boyanma yoğunluğuna bakılmaksızın kahverengi boyanan çekirdekler pozitif, mavi boyanan çekirdekler negatif olarak kabul edildi. Apoptotik indeksin belirlenmesi için, ışık mikroskopunda 20x objektif büyütmesinde, manuel olarak, rastgele seçilen 6 alanda 100 hücre sayılarak boyanan ve boyanmayan hücre çekirdeği oranına göre belirlendi.

TUNEL Yöntemi

1. Deparafinizasyon
2. Proteinaz K (20 µg/ml) ile inkubasyon- 15 dakika, oda ısısında
3. %3'lük hidrojen peroksidad ile inkubasyon- 5 dakika, oda ısısında
4. Equilibration buffer ile inkubasyon- 10 saniye, oda ısısında
5. TdT enzimi ile inkubasyon- 37°C'de 1 saat
6. Stop buffer ile inkubasyon- oda ısısında 10 dakika
7. Anti-digoxigenin knjugat ile inkubasyon- oda ısısında 30 dakika
8. DAB ile inkubasyon- oda ısısında 3-6 dakika
9. Yıkama
10. Methyl green (%0,5) solüsyonu ile inkubasyon- oda ısısında 10 dakika
11. %100'lük N-Butanol ile yıkama
12. Ksilol
13. Gliserin- jelatin çözeltisi ile yapıştırma

3.5.2. Safranin-O/Fast Green yöntemi

(Deparafinizasyon ve Distile Su ile rehidrasyon)

1. Weigert's Hematoksilen solüsyonu ile inkubasyon- 5 dakika
2. Yıkama
3. %1'lik asit-alkol solüsyonu- 2 saniye
4. Yıkama
5. %0,02'lik Fast Green solüsyonu ile inkubasyon-2 dakika
6. %1'lik asetik asit solüsyonu ile inkubasyon-30 saniye
7. %1'lik Safranin-O solüsyonu ile inkubasyon- 30 dakika
8. Alkol %96'lık-2 dakika

9. Alkol %100'lük- 2 dakika
10. Ksilol
11. Gliserin-jelatin çözeltisi ile yapıştırma

Tablo 2: Modifiye Mankin Skorlaması

<u>Yapı</u>	<u>Puan</u>
Normal	0
Yüzey düzensizlikleri	1
Pannus ve yüzey düzensizlikleri	2
Geçiş bölgesine yarıklar	3
Radyal bölgeye yarıklar	4
Kalsifiye bölgeye yarıklar	5
Komple düzensizlik	6
<u>Hücresellik</u>	
Normal	0
Artış veya hafif azalma	1
Orta derecede azalma	2
Şiddetli azalma	3
Hücre yok	4
<u>Safranin-O Boyama</u>	
Normal	0
Hafif azalma	1
Orta derecede azalma	2
Şiddetli azalma	3
Boyama yok	4
<u>Tidemark bütünlüğü</u>	
Bozulmamış	0
Tutarlı veya belirgin/yinelenmiş değil	1

Damar invazyonu	2
-----------------	---

3.6. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Serumda biyokimyasal parametreler Erel ve Neselioglu (103) yöntemi ile NAC'in serumdaki oksidan-antioksidan profili DTDH yöntemi ile değerlendirildi. Dondurulmuş kan serumları Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversite Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı laboratuvarlarında incelendi.

Deneklerden venöz kan örnekleri toplandı ve 2300 x g'de 10 dakika santrifüjlendi. Serum örnekleri ayrıldı ve analize kadar -80 °C'de saklandı. Serum DTDH'i, yakın zamanda geliştirilen yeni ve otomatik bir ölçüm yöntemi ile otomatik bir klinik kimya analizörü (Roche, cobas 501, Mannheim, Almanya) kullanılarak belirlendi. Doğal tiyol (-SH) ve toplam tiyol (-SH + -SS-) doğrudan ölçüldü ve -SS-/SH, -SS-/SH + -SS-, -SH/-SH + -SS-sonuçları hesaplanarak elde edildi.

3.7. İSTATİSTİKSEL İNCELEME

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn's testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamız 30 gün süre ile 7'si (%33.3) Kontrol, 7'si (%33.3) tedavi almayan, 7'si (%33.3) tedavi alan olmak üzere 3 grup altında toplam 21 rat ile yapılmıştır.

Gruplar 7'şer sıçandan ve toplam 21 adet olarak 3 grup olarak değerlendirildi.

- Tedavi Grubu ☐ A Grubu (A1-A7)
- Tedavi almayan grup ☐ B Grubu (B1-B7)
- Kontrol Grubu ☐ C Grubu (C1-C7)

Çalışma başından sonuna kadar işaretlemiş olan her gruptaki sıçanlara 1'den 7'e kadar numaralandırma yapıldı.

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.1.1. Mikroskopik bulgular

Kontrol grubu (C grubu)

Elde edilen kıkırdak dokusu normal histolojik görünümde izlendi. Femoral ve tibial kıkırdak yüzeyinin düzgün olduğu ve kondrositlerin normal biçimde dağılmış olduğu izlendi (Şekil 10).

Tedavi almayan grup (B Grubu)

H&E boyanmada, kıkırdak yüzeyinde transisyonel ve bazılarında derin zona kadar uzanan fissürlerden tamamen disorganizasyona değişen bulgular ile orta dereceli hiposelülerite, proteoglikan düzeyinde azalma, subkondral kemikte kalınlaşma gibi şiddetli OA bulguları izlendi (Şekil 11). Sinoviyada hafif düzeyde hiperplazi izlenirken anlamlı düzeyde yangısal hücre infiltrasyonuna rastlanmadı. Safranin-O boyanmasında kontrol grubuna göre belirgin düzeyde azalma gözlemlendi (Şekil 12). Genel olarak tüm grupta, OA oluşumunu destekler biçimde Mankin skorunda artış saptandı.

Tedavi grubu (A grubu)

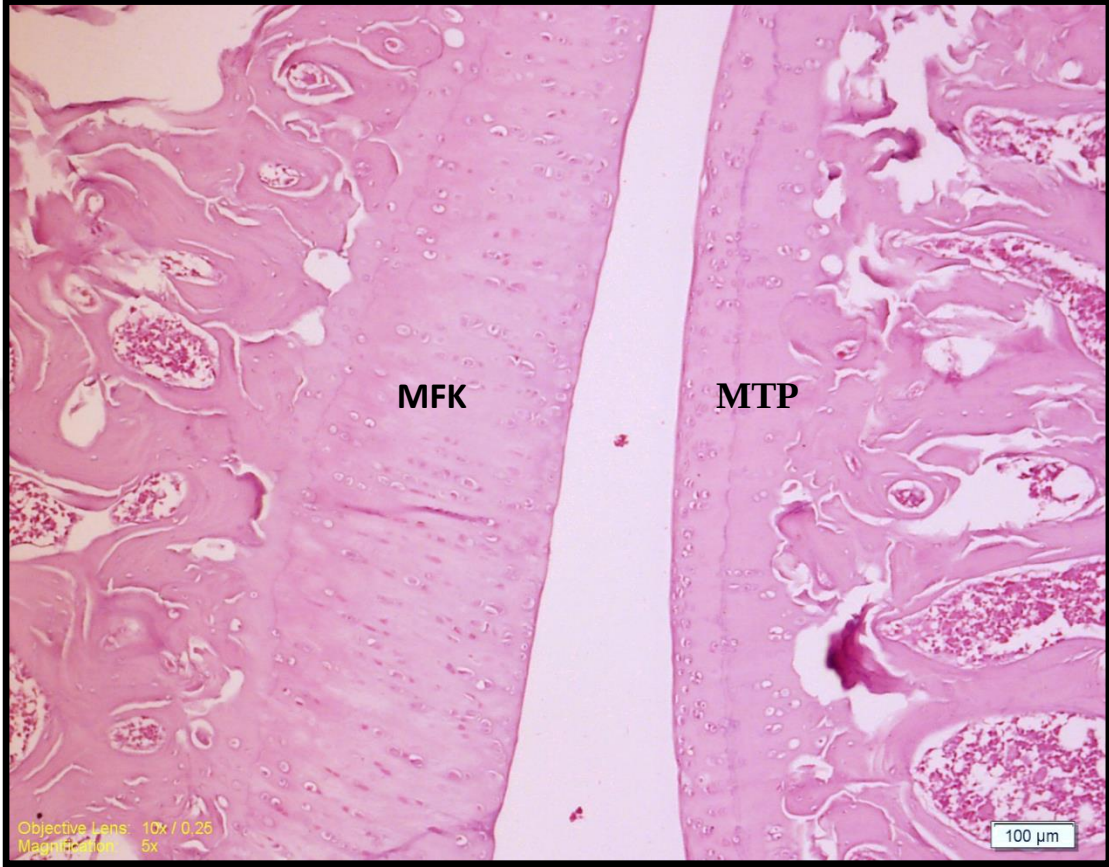
Genel olarak tüm grupta, eklem yüzeyinde fissür oluşumu, kondrositlerde 2-4'lü gruplaşmalar gibi OA bulgularına rastlanmakla beraber, histopatolojik bulguların şiddetinde tedavi almayan gruba göre belirgin olarak azalma izlendi. Genel histopatolojik skorlar MIA grubuna göre daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p: 0.038) (Şekil 13).

4.1.2. Apoptoz Bulguları

Kontrol grubunda genel olarak TUNEL ile işaretlemeye tek tek hücrede pozitif boyanma izlendi.

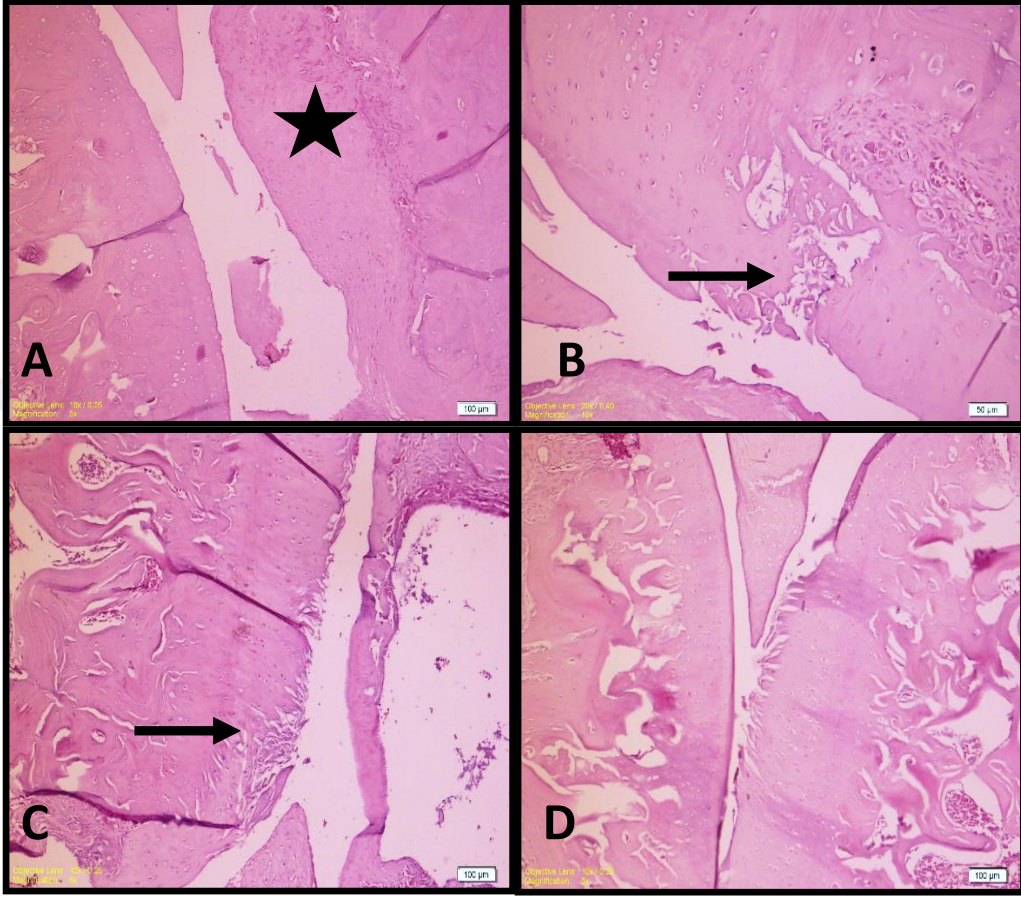
Tedavi grubunda, kontrol grubuna oranla pozitif boyanan hücre sayısında belirgin artış izlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p: 0,022).

Tedavi almayan grupta ise kontrol grubuna oranla pozitif boyanan hücre sayısında artışla beraber belirgin artış izlenmedi (Şekil 14).



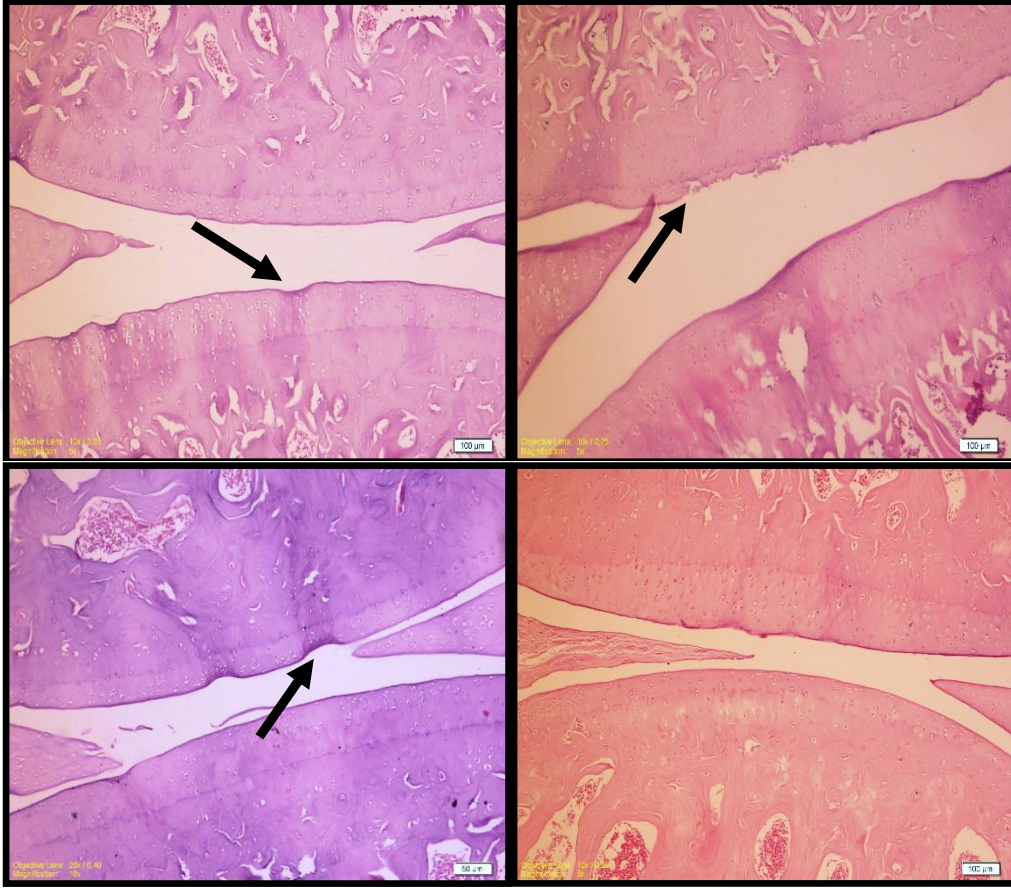
Şekil 10: Kontrol grubu, H&E, Medial femoral kondil ve medial tibial plato.

Kıkırdak yüzeyi düzenli, hücre dağılımı ve kalınlık normal

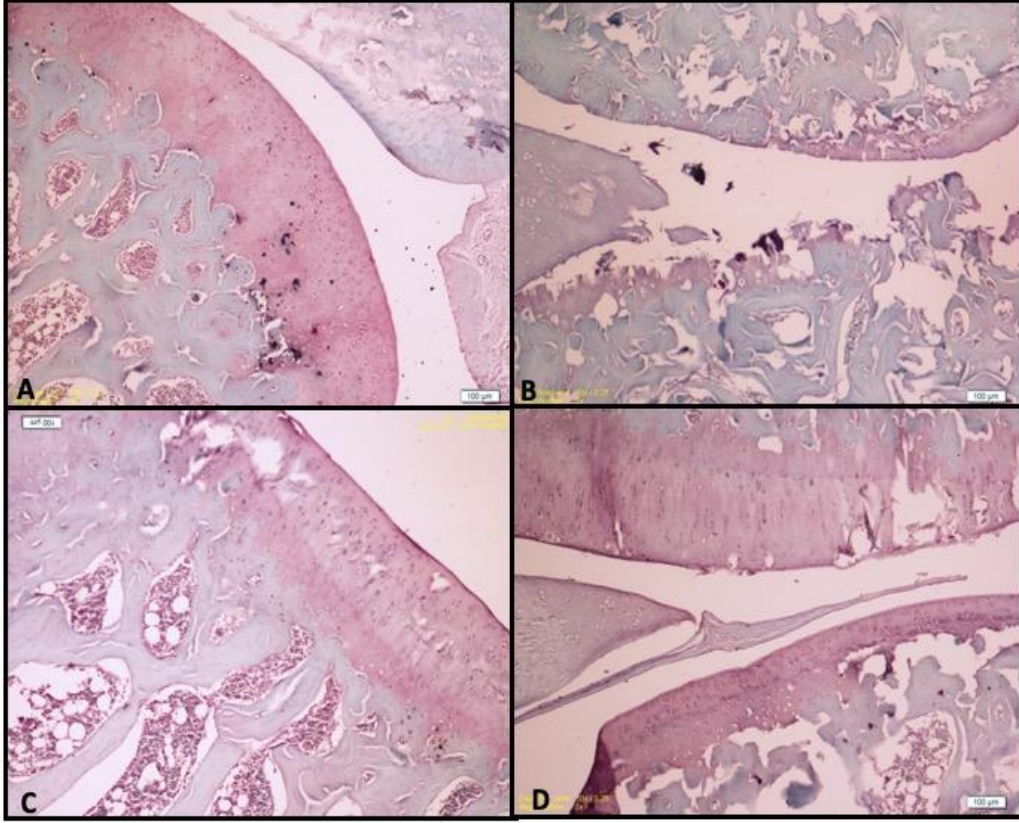


Şekil 11: Tedavi almayan grup, H&E bulguları. A. Fibrozis (yıldız) bulguları.

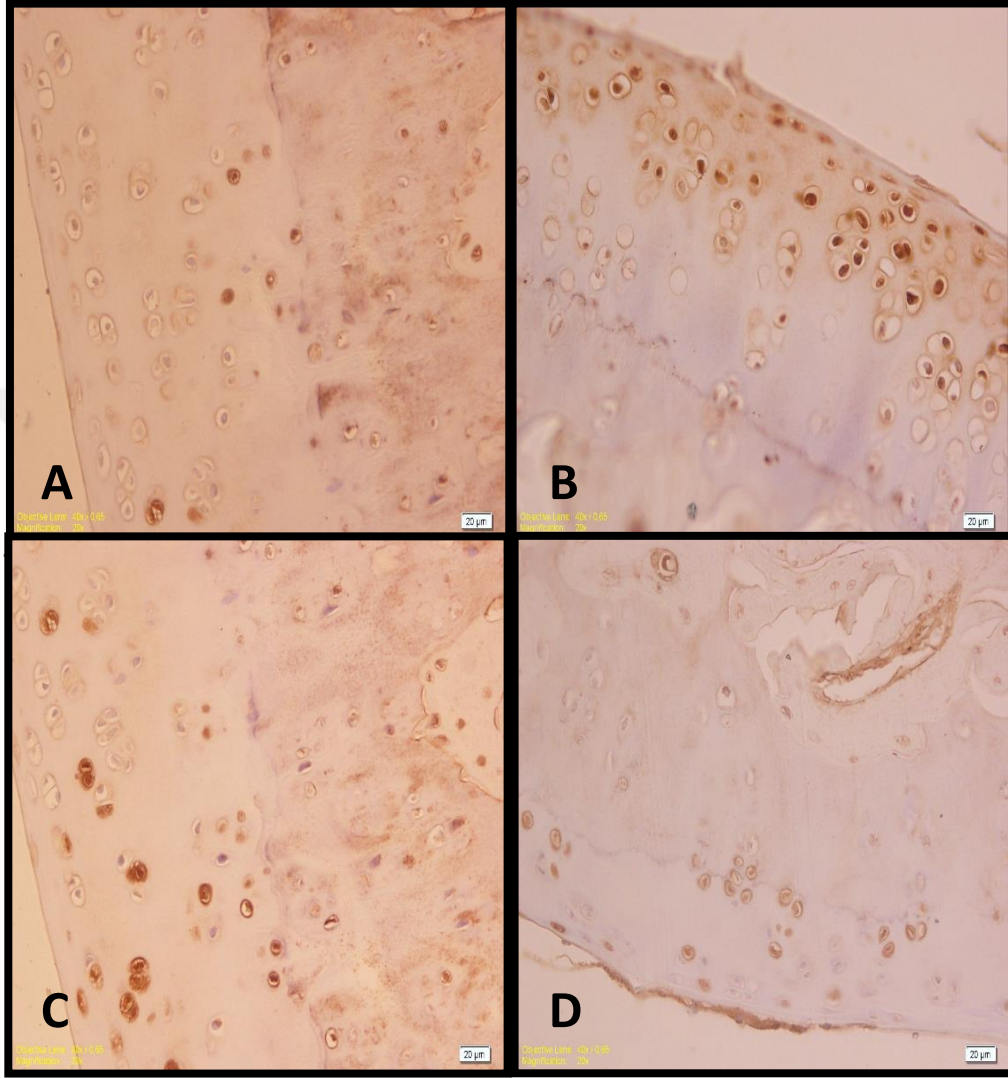
B-C. Kıkırdak yüzeyinde derin zona kadar uzanan fissür (ok). D. Disorganizasyon bulguları.



Şekil 12: Tedavi grubu, H&E bulguları. Histopatolojik bulguların şiddetinde MIA grubuna göre belirgin olarak azalma, Genel olarak eklem yüzeyinde hafif – orta şiddette düzensizlik, superfisiyal yüzeye uzanan fissürler (ok).



Şekil 13: Safranin-O bulguları. A. Kontrol grubu. B. Tedavi almayan grup. C-D. Tedavi grubu. Tedavi almayan grupta, kontrol gruba göre belirgin safranin boyamasında azalma mevcuttur.



Şekil 14: TUNEL yöntemi bulguları. A. Kontrol Grubu, genel olarak kontrol grubunda az sayıda TUNEL-pozitif kondrositler izlendi. B. Tedavi almayan grup. C. Tedavi alan grup. D. Tedavi alan grup

4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

EDTA içeren tüplere venöz kan örnekleri alındı. Serum numuneleri hücrelerden 2300 x g' de 10 dakika santrifüj edilerek ayrıldı. Numuneler -80 °C'de saklandı. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Biyokimya Anabilimdalı'nda numuneler incelendi (Tablo 3).

Tablo 3: Tiyo/Disülfid Homeostazi

Grup	Native Thiol	Total Thiol	Disülfid	(Disülfid/Native thiol)*100	(Disülfid/Total thiol)*100	(Native Thiol/Total thiol)*100	IMA (ABSU)
A1	274,2	323,3	24,55	8,95	7,59	84,81	117,33
A2	289,8	329	19,6	6,76	5,96	88,09	95,11
A3	222,9	262,2	19,65	8,82	7,49	85,01	96,44
A4	366,7	377,1	5,2	1,42	1,38	97,24	100,00
A5	294,2	338,6	22,2	7,55	6,56	86,89	107,56
A6	332,7	371	19,15	5,76	5,16	89,68	104,00
A7	258,1	295,2	18,55	7,19	6,28	87,43	103,56
B1	245,2	280,8	17,8	7,26	6,34	87,32	100,89
B2	395,4	441,1	22,85	5,78	5,18	89,64	114,22
B3	227,2	270,5	21,65	9,53	8,00	83,99	90,22
B4	244,8	286,4	20,8	8,50	7,26	85,47	100,44
B5	254,7	297,6	21,45	8,42	7,21	85,58	115,11
B6	239,7	284,2	22,25	9,28	7,83	84,34	106,22
B7	337,2	393,6	28,2	8,36	7,16	85,67	97,78
C1	287,3	328,7	20,7	7,21	6,30	87,40	93,33
C2	266,6	312,6	23	8,63	7,36	85,28	107,56
C3	251,9	290,7	19,4	7,70	6,67	86,65	86,22
C4	318,4	367	24,3	7,63	6,62	86,76	100,44
C5	304	353,7	24,85	8,17	7,03	85,95	77,33
C6	333,4	374,2	20,4	6,12	5,45	89,10	105,33
C7	270,6	315,6	22,5	8,31	7,13	85,74	88,00

Tablo 4: Biyokimyasal ve histopatoloji parametrelerine ilişkin bilgiler

		Min-Max	Ort±SS (medyan)
Biyokimyasal	Native Thiol	222,9-395,4	286,43±46,69 (274,2)
	Total Thiol	262,2-441,1	328,24±46,42 (323,3)
	Disulfide	5,2-28,2	20,91±4,36 (21,45)
	(Disulfide/Native thiol)*100	1,42-9,53	7,49±1,76 (7,7)
	(Disulfide/Total thiol)*100	1,38-8	6,47±1,42 (6,67)
	(Native Thiol/Total thiol)*100	83,99-97,24	87,05±2,84 (86,65)
	IMA (ABSU)	77,33-117,33	100,34±9,92 (100,44)
Histopatoloji	Mankin skor	0-16	5,52±5,26 (4)
	Apoptotik indeks (%)	1,17-27,33	13,37±9,07 (14,95)

Native thiol değerleri 222,9 ile 395,4 arasında değişmekte olup, ortalaması 286,43±46,69 ve medyanı 274,2'dir. Total thiol değerleri 262,2 ile 441,1 arasında değişmekte olup, 328,24±46,42 ve medyanı 323,3'dür. Disulfide değerleri 5,2 ile 28,2 arasında değişmekte olup, ortalaması 20,91±4,36 ve medyanı 21,45'dir. (Disulfide/native thiol)*100 değerleri 1,38 ile 8 arasında değişmekte olup, ortalaması 6,47±1,42 ve medyanı 6,67'dir. (Native thiol/total thiol)*100 değerleri 83,99 ile 97,24 arasında değişmekte olup, ortalaması 87,05±2,84 ve medyanı 86,65'dir. IMA değerleri 77,33 ile 117,33 arasında değişmekte olup, ortalaması 100,34±9,92 ve medyanı 100,44'dür (Grafik 1-5).

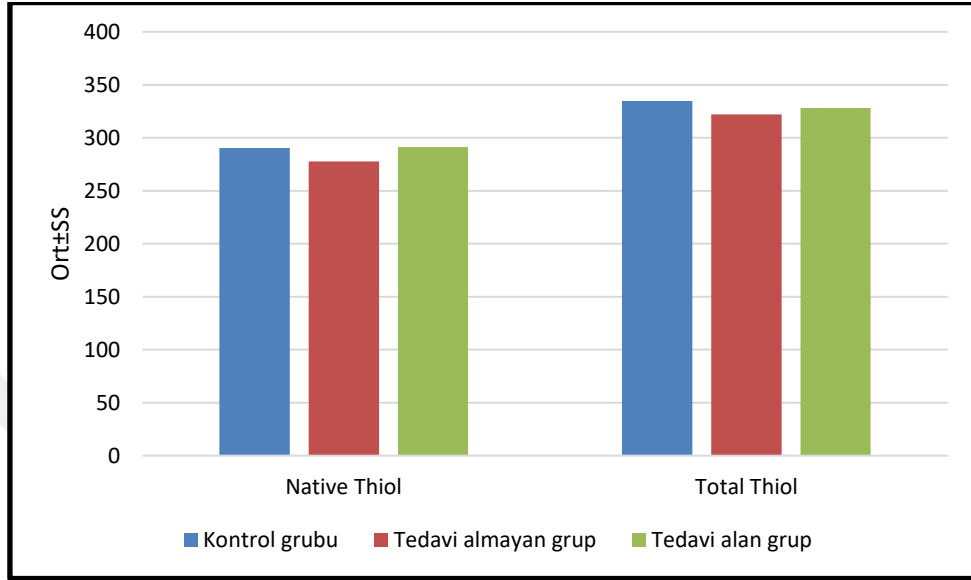
Mankin skorları 0 ile 16 arasında değişmekte olup, ortalaması 5,52±5,26 ve medyanı 4'dür. Apoptatik indeks değerleri 1,17 ile 27,33 arasında değişmekte olup, ortalaması 13,37±9,07 ve medyanı 14,95'dir (Grafik 6,7) (Tablo 4).

Tablo 5: Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerin değ erlendirilmesi

	Kontrol grubu	Tedavi almayan grup	Tedavi alan grup	P
	(Min-Max)- (Ort±SS (medyan))	(Min-Max)-(Ort±SS (medyan))	(Min-Max)- (Ort±SS (medyan))	
Native Thiol	(251,9-333,4)- (290,31±29,63 (287,3))	(227,2-395,4)- (277,74±63,32 (245,2))	(222,9-366,7)- (291,23±47,4 (289,8))	0,489
Total Thiol	(290,7-374,2)- (334,64±31,06 (328,7))	(270,5-441,1)- (322,03±67,02 (286,4))	(262,2-377,1)- (328,06±40,42 (329))	0,571
Disulfide	(19,4-24,85)- (22,16±2,06 (22,5))	(17,8-28,2)-(22,14±3,12 (21,65))	(5,2-24,55)- (18,41±6,19 (19,6))	0,195
(Disulfide/Native thiol)*100	(6,12-8,63)-(7,68±0,84 (7,7))	(5,78-9,53)-(8,16±1,28 (8,42))	(1,42-8,95)- (6,63±2,56 (7,19))	0,274
(Disulfide/Total thiol)*100	(5,45-7,36)-(6,65±0,64 (6,67))	(5,18-8)-(7±0,96 (7,21))	(1,38-7,59)- (5,78±2,12 (6,28))	0,274
(Native Thiol/Total thiol)*100	(85,28-89,1)-(86,7±1,27 (86,65))	(83,99-89,64)-(86±1,93 (85,58))	(84,81-97,24)- (88,45±4,23 (87,43))	0,274
IMA (ABSU)	(77,33-107,56)- (94,03±11,02 (93,33))	(90,22-115,11)- (103,56±8,97 (100,89))	(95,11-117,33)- (103,43±7,53 (103,56))	0,228

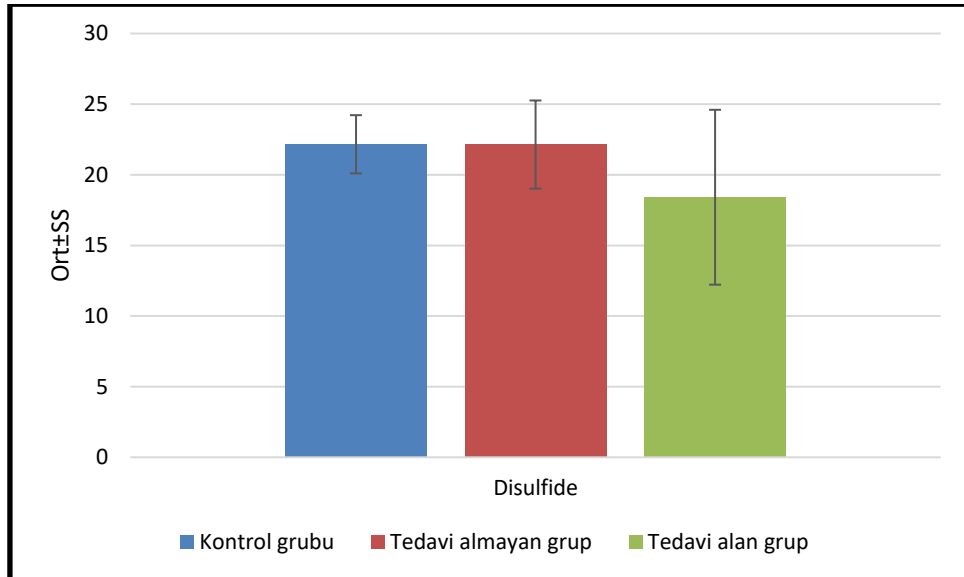
Kruskal Wallis Test

Gruplar arasında native thiol ve total thiol parametreleri değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 5).



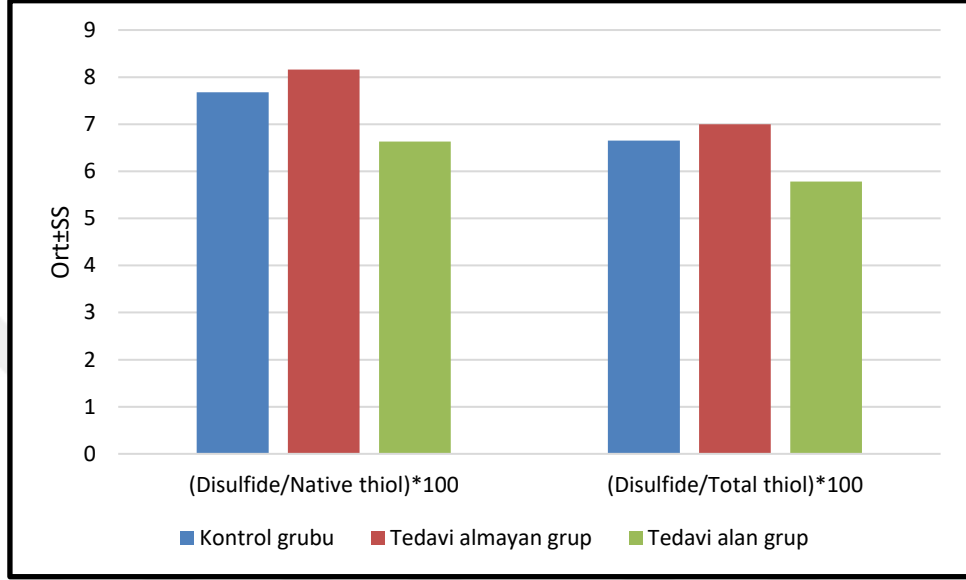
Grafik 1: Grupların native thiol ve total thiol ortalamaları

Gruplar arasında disulfide değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

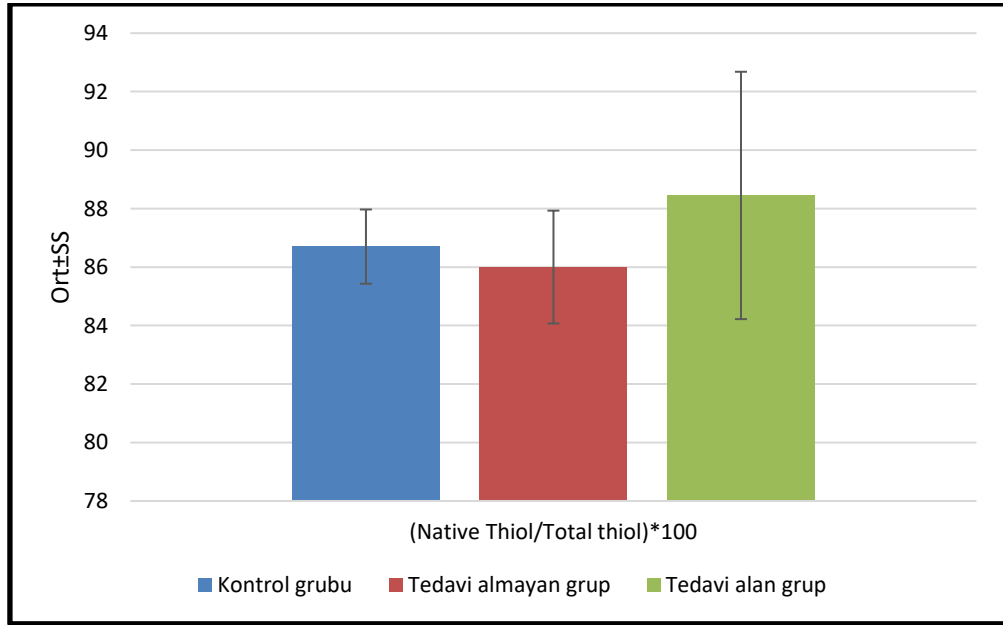


Grafik 2: Grupların disülfid ortalaması

Gruplar arasında (disulfide/native thiol)*100, (disulfide/total thiol)*100 ve (native thiol/total thiol)*100 parametreleri değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

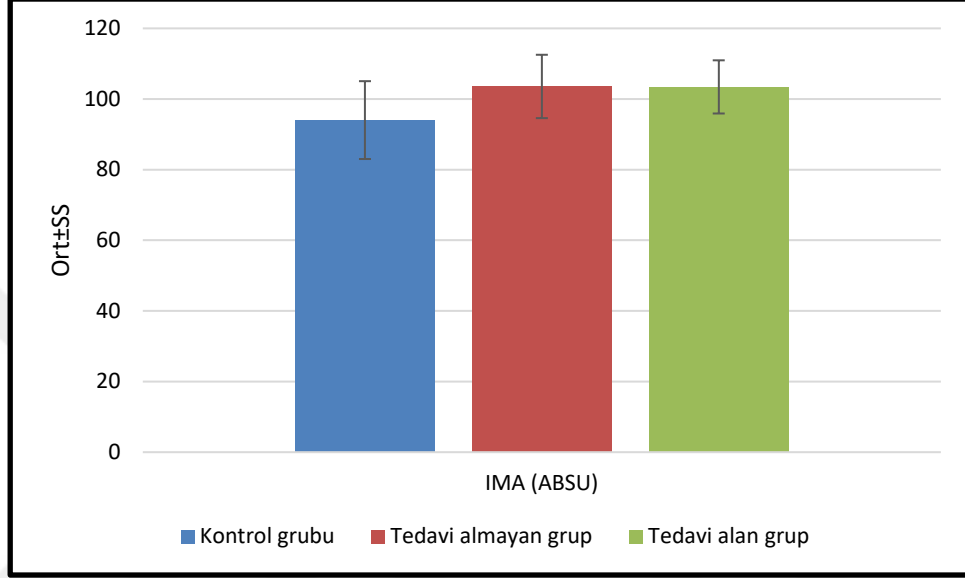


Grafik 3: Grupların (Dilsüfit/Native thiol)*100 ve (Disülfit/Total thiol)*100 değerlerinin ortalamaları



Grafik 4: Grupların (Native/Total thiol)*100 değerlerinin ortalamaları

Gruplar arasında IMA değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 5).



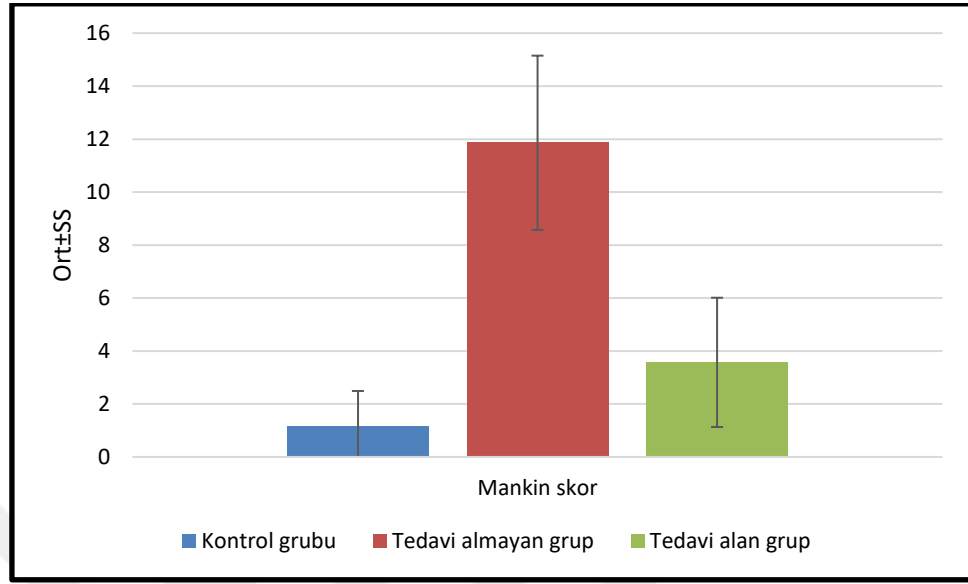
Grafik 5: Grupların IMA (ABSU) değerlerinin ortalamaları

Tablo 6: Gruplar arasında histopatoloji parametrelerinin değerlendirilmesi

	Histopatoloji	
	Mankin skor	Apoptatik indeks (%)
	(Min-Max)-(Ort±SS (medyan))	(Min-Max)-(Ort±SS (medyan))
Kontrol grubu	(0-3)-(1,14±1,35 (1))	(1,17-3)-(2,17±0,69 (2,22))
Tedavi almayan grup	(7-15)-(11,86±3,29 (13))	(15,33-27,33)-(22,5±4,37 (23,83))
Tedavi alan grup	(0-7)-(3,57±2,44 (4))	(11,08-19,17)-(15,42±2,47 (14,95))
p	0,001*	0,000*

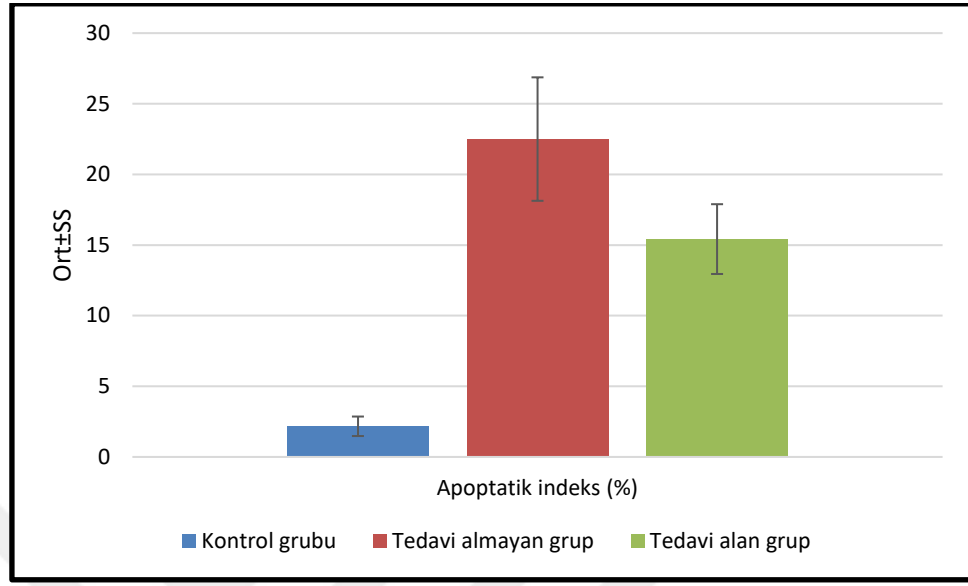
Kruskal Wallis Test * $p < 0.05$

Gruplar arasında mankin skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Tedavi almayan grubun mankin skorları, Kontrol ve Tedavi alan gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.038$; $p<0.05$). Kontrol ve Tedavi alan gruplar arasında mankin skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 6).



Grafik 6: Grupların Mankin skor değerlerinin ortalamaları

Gruplar arasında apoptatik indeks değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubun apoptatik indeks değerleri, Tedavi almayan ve Tedavi alan gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.022$; $p<0.05$). Tedavi almayan ve Tedavi alan gruplar arasında apoptotik indeks değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Grafik 7: Grupların Apoptotik indeks (%) değerlerinin ortalamaları

5. TARTIŞMA

Diz OA'sı, eklem kıkırdak dokusunun müzmin şekilde yıpranması ile seyreden ilerleyici bir hastalıktır (143). OA hastalarda günlük hareketleri kısıtlayan en önemli hastalıklardan biridir (144). OA'nın prevalansı ve insidansı, etkilediği eklem ve görüldüğü coğrafik bölgeye göre değişkenlik gösterebilmektedir (44). Diz OA prevalansı son on yılda önemli ölçüde arttığı ve kısmen obezite prevalansının ve diğer risk faktörlerinin artması nedeniyle ve aynı zamanda diğer nedenlerden bağımsız olarak artmaya devam ettiği bildirilmektedir (145). 60 yaş ve üzeri erişkinlerde diz OA prevalansının erkeklerde yaklaşık %10 ve kadınlarda %13 olduğu tahmin edilmektedir (146). Dünya'da 240 milyondan fazla insanın OA'dan etkilendiği düşünülmektedir (147). ABD'de yaşam süresinin ve obezitenin artışı ile OA prevalansının 2020 yılında yaklaşık 2 katına çıktığı öngörülmüştür (144). ABD'de her sene 100.000 yeni OA hastası insidansı görüldüğü tahmin edilmekte ve bu durum ülke ekonomisini de ciddi şekilde etkilemektedir (148). Avrupa'ya bakıldığında ise 70 milyon dolaylarında insanı etkilediği ve tedavi maliyetlerinin tahmini 2 milyar avroyu geçtiği hesaplanmaktadır (149). OA insan vücudunda en sık diz eklemine görülür (5). Dizde öncelikle medial alanı etkilemekle beraber, lateral ve patellofemoral alanları da etkileyebilir (15). OA hastaları ağrı, hareket kısıtlılığı, eklemde instabilite gibi semptom ve bulgulardan şikayetçidirler (150). Görülen o ki OA tüm insanlık için ciddi bir halk sağlığı sorunudur.

Çalışmalar, OA ile kardiyovasküler ve ateroskleroz ile ilişkili hastalıkların gelişme riskinin artması arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (151,28,152). Ek olarak, alt ekstremitte OA'sı olan kişilerde, OA'nın en sık görülen ve en şiddetli sonucu olan kronik ağrı nedeniyle depresif belirtiler geliştirme olasılığı daha yüksektir (153). Depresif atakların önde gelen nedeni olarak, kronik ağrı, ağrının fiziksel aktiviteyi sınırladığı ve fiziksel hareketsizliğin daha fazla diz ağrısına ve kilo alımına katkıda bulunduğu bir kısır döngüye neden olur (44). Kuşkusuz, OA insanların ruh sağlığını ve aynı zamanda intihar düşüncesi olasılığını da etkiliyor, bu da OA'yı sadece ekonomik değil, aynı zamanda büyük bir sosyal yük haline getiriyor (44,154). OA tedavi edilmediği takdirde sadece fiziksel bir sorun olmanın yanı sıra ciddi komorbid

hastalıklara, mental ve sosyal sorunlara yol açarak yandaş problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu durum da birçok bilim insanını OA özelinde çalışma yapmaya yönlendirmektedir.

Kurduğumuz çalışma planında küçük hayvan modelini esas alarak hastalık sürecinin patofizyolojisini oluşturup NAC tedavisinin neticeleri incelemeyi tasarladık. Küçük hayvan modelleri, büyük hayvan modellerine göre nispeten daha hızlı, daha ucuz ve uygulanması ve incelenmesi daha kolay modellerdir. Hastalıkta terapötik müdahale için ilk tarama modeli olarak kullanılırlar. Küçük hayvan modelinde ilaçların veya tedavinin başarısı, insanlarda klinik çalışmalardan önce daha fazla test yapılmasını garanti eder (155). OA modeli oluşturmak için de literatürde birçok model tanımlanmıştır. Deneysel hayvan OA modeli ile çalışmak için deneysel hayvanın bakımı, maliyeti, çalışma kolaylığı, verilecek tedaviye yanıt ve OA geliştirilmesi gibi parametreler dikkate alınmalıdır (156). Deneğin fazla sayıda olması, hızlı ve kolay şekilde temini, ortama adaptasyonlarının iyi olması ve gelişebilecek enfeksiyona dirençli olmaları sebebiyle ratları kullandık. Guzman RE ve ark. yaptıkları bir çalışmada ratlarda eklemiçi MIA uygulamasının OA benzer şekilde eklem kıkırdak harabiyetini sağlayan hızlı ve ufak girişimsel bir yöntem olduğunu göstermişlerdir (157). Ayrıca MIA'nın kıkırdak doku metabolizmasına zarar verdiğini, subkondral kemik lezyonlarına sebep olabildiğini ve kondrosit ölümünü indüklediğini görmekteyiz. Bu patolojik süreçler ROS seviyelerinin artışı ile sonuçlanmaktadır. Bu avantajlar da bizi küçük hayvan modelinde MIA ile oluşturulan OA modelinde çalışma yapmamıza karar kıldırdı.

Birçok çalışma, kondrosit bozukluğunun (apoptoz ve nekroz içeren) hücre dışı matriste anabolizma ve katabolizma arasındaki dengeyi bozduğunu ve OA'nın ilerlemesinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir (158). Birincil ve ikincil OA olarak ele alındığında birincil OA oluşumunda spontan modeller kullanılırken, ikincil OA modelinde invaziv ve non invazif yöntemler ile model oluşturulması kullanılmıştır (5). MIA ile oluşturulan OA kimyasal indüklenmiş invazif OA modelidir. Günümüzde OA çalışmasında en yaygın olarak kullanılan bileşik MIA'dır (159). Kondrositlerin ölümüne yol açan Krebs döngüsünün gliseralehit-3-fosfat dehidrojenazını inhibe eder.

Bu da osteofit oluşumuna ve eklem kıkırdağının bozulmasına neden olur (160). Sonrasında 7 gün süren hızlı iltihaplanma ve ağrı, ardından sonraki 10. günde başlayan kronik kas-iskelet sistem ağrısıdır. MIA kaynaklı OA modeli, hayvanlarda ağrıyı gidermek için ağrı davranışını ve ilaç tedavisini ölçmek için düzenli olarak kullanılır. Bu model, OA ilaçlarını test etmek için kullanılan diğer modellerden daha fazla ilaç etkinliğini öngörebilir (161). Genellikle farelerde ve sıçanlarda kullanılır (157). Birçok deney, MIA'nın in vivo ve in vitro olarak kıkırdak matriks bozulması ve kondrosit apoptozisi ile sonuçlanabileceğini kanıtlamıştır (162,163). Bizde literatüre uygun olarak sıçanlarda eklemiçi 10mg/ml konsantrasyonda, 0.025 ml kadar MIA uygulaması ile ılımlı bir OA modeli tasarladık (139,159). Çalışmanın histopatolojik amacı, MIA'nın neden olduğu kondrosit apoptozunu, olası moleküler mekanizmaları araştırmaktır.

Tedavide birinci basamak önerileri yaşam tarzı modifikasyonu, egzersiz ve rehabilitasyon uygulamaları ve kilo kaybı sağlanması oluşturur (46). Medikal tedavide birinci basamak tercih edilecek ilaçlar asetaminofendir. Gerekli yanıt alınamadığı durumlarda ikinci basamak olarak lokal ve sistemik anti-inflamatuar ilaçlar, glukozamin, kondroitin sülfat ve diyet takviyeleri tercih edilir (109,164). Eğer ağrı şiddeti devam ediyorsa üçüncü basamak olarak tramadol verilebilir. Ağrıyı ve enflamasyonu baskılamak amacı ile palyatif olarak eklemiçi kortikosteroid injeksiyonu uygulanabilir (165). Tüm bu tedavilere rağmen ağrı şiddetinde azalma sağlanamaz ise ağrıları giderme adına opioidler tercih edilebilir (164). Trombositten zengin plazma (PRP)'nin in vitro ve in vivo çalışmalarda eklem kıkırdağının iyileşmesinde ve remodülasyonunda etkinliğini gösteren çalışmalar olsa da etkinliği kesin bir şekilde kanıtlanamamış ve tedavi kılavuzlarına girmemiştir (166). Eklem içi hyalüronik asit injeksiyonu, eklem viskoelastisite artışı nedeni ile diz OA'sında çoğu çalışmada ve meta-analizde bildirildiği gibi yüksek oranda kullanılmaktadır (167). Diz eklem replasman cerrahisi yapılan hastaların yaklaşık % 30'unda memnuniyet sağlamadığı ve psikojenik faktörlerin de etkili olduğu söylenmektedir (168). Son yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlara göre OA hastaları yaşadıkları nüfus içerisinde daha yüksek mortaliteye sahip olduğu gösterilmiştir (169). Sonuç olarak OA'lı hastalarda tedavinin birincil amacı amacı ağrıları azaltmanın

yanı sıra eklem hareket açıklığını sağlamak, fiziksel hareket ve yaşam kalitesini arttırmak, eklem kıkırdak harabiyetinin ilerlemesini durdurmak ve hastaları eğitmek amaçlı literatürde konservatif ve cerrahi olmak üzere birçok çalışma bulunmaktadır (170). Bu durum da göstermektedir ki OA tedavisinde hala yeni tedavi modaliteleri araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Düşük antioksidan seviyeleri, kıkırdağı ROS'tan koruyamadığı için artrit için bir risk faktörüdür. NAC bir ROS temizleyicisidir ve konsantrasyona bağlı olarak bir anti-inflamatuardır (171). Glutasyon öncüsü olan NAC, literatürde tartışılan bir başka uygun alternatif tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilir. Bu öncü molekül, hücre zarına nüfuz ederek ve hücre içinde glutasyon oluşturmak üzere glutamik asit ve glisin ile reaksiyona girerek hem doğrudan hem de dolaylı yollarla ROS'u temizleyebilir (92). ROS üretimi, eklem kıkırdağında iltihaplanmaya, kondrositlerin apoptozisine neden olur ve sonunda artrit ile sonuçlanır (172). Hücre apoptoz sinyalinin oksidatif stres tarafından tetiklendiğini göstermektedir. OA'nın gelişimini ve ilerlemesini önlemeye yönelik yeni çabalar, eklem kıkırdağında oksidatif hasarı azaltmayı amaçlayan stratejiler ve müdahaleler içerebilir (173). Bu nedenle, oksidatif stresin, birincil sıçan kondrositlerinde MIA tarafından indüklenen apoptozda önemli bir yukarı akış rolü oynayabileceği sonucuna varıyoruz. Neticesinde hem eklem kıkırdak doku histopatolojik değişimlerini hem de biyokimyasal olarak tiyol/disülfid homeostazisini incelemeye karar verdik.

Oksidatif stres, OA'nın olası bir nedenidir. Diz osteoartriti ve oksidatif stres arasındaki ilişkiye dair bazı kanıtlar vardır (174,1,175). ROS gibi proinflamatuvar mediatörlerin seviyeleri osteoartritte yükselir. Bu nedenle, oksidatif aktiviteye sahip bu reaktif türlerin artan seviyeleri, birçok proinflamatuvar sitokinin etkilerine aracılık eder (176,3,177). Tiyoller hemen hemen tüm fizyolojik oksidanlarla etkileşim halindedir (97). Proteinlerin tiyol grupları, ortamda bulunan oksijen molekülleri tarafından oksitlenir ve geri dönüşümlü olarak disülfid bağlarına dönüştürülür. Oluşturulan disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına indirgenebilir. Böylece tiyol-disülfid dengesi korunur (99). DTDH'i, antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptoz, enzim aktivitesinin

düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücrel sinyal iletim mekanizmalarında kritik bir rol oynar (100,101). Oksidatif stres, osteoartrit riskinin artmasına neden olur, ancak kesin mekanizma belirsizliğini koruyor. Diz osteoartriti ile oksidatif/antioksidatif durum arasındaki ilişki de araştırılmaktadır (178,179). Çalışmalar, oksidatif stresin kondrosit yaşlanmasına ve kırıldak yaşlanmasına neden olduğunu ileri sürdü (180,181). Altındag ve ark. (182) yapmış olduğu klinik çalışmada osteoartritli hastalarda oksidatif stres indeksi önemli ölçüde arttı. Total antioksidan kapasite ve -SH + -SS- azaldı. Antioksidan mekanizmada da yer alan tiyol, disülfide bağlanır ve tiyol grupları azalır, bu da DTDH'ine yol açar. DTDH, spektrofotometrik yöntemle ölçülen oksidatif stresin bir göstergesidir. Juvenil idiyopatik artritli (JİA) hastaların serum nativ ve total tiyol düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında JİA hastalarında daha yüksek bulundu (183). Tiyol, oksidatif strese karşı antioksidan yolda kritik bir biyokimyasal belirteçtir (184).

Yukarıdaki çalışmaların aksine Tuzcu ve ark. romatoid artrit hastalarında tam tiyol düzeylerinin (total ve native) sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmiştir (185). İnaktif Ankilozan Spondilit (AS) grubunun aktif AS grubuna göre daha düşük doğal ve toplam tiyol seviyelerine sahip olduğu da bildirilmiştir (186). Çalışmalar, artan oksidatif stres durumunda antioksidatif savunma mekanizmasının artan disülfid ile negatif ilişkili olduğunu gösteren tiyol seviyesinin azaldığını göstermiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi araştırmaların sonuçları, bizim sonuçlarımızla birlikte, OA'nın ilerlemesinde DTDH'nin öngörücü etkisini ortaya koymaktadır. Altay ve ark. (179) diz OA hastalarında toplam tiyol ve tam antioksidan hacminin değişmediğini bildirmiştir. Tetik ve ark. (187) tarafından yapılan bir çalışmada, romatoid artrit ve birincil OA hastalarında plazma tiyol düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir.

Erel ve Neselioglu tarafından tanımlanan DTDH'i yeni bir spektrofotometrik teknikle belirlendi. Her iki değişken seviyesi de yeni ve otomatik bir yöntemle tek tek ve kümülatif olarak ölçülebilmektedir (103). Biz de çalışmamızda MIA ile oluşturulmuş diz OA modelinde NAC tedavisinin oksidatif bir duruma karşı vermiş olduğu antioksidan

yanıtın sistemik etkisinin varlığını güncelliğini koruyan teknik ile araştırmaya karar kıldık. OA'da DTDH zayıflar ve denge disülfüd bağı oluşumu tarafına kayar. Yine yapılan başka bir klinik çalışmada tiyol eksikliğinin ikame edilmesi ve tiyol/disülfid dengesizliğinin düzeltilmesi, hastalığın tedavisinin yönetiminde faydalı olabileceği öne sürülmüştür (188).

Bulgularımız, kontrol grubuna (C Grup) ve tedavi almamış gruba (B Grup) göre tedavi grubunda (A Grup) serum nativ tiyol düzeylerinin daha yüksek ($p: 0.489$; $p<0.05$) ve serum disülfid düzeylerinin daha düşük olduğu ($p: 0.195$; $p<0.05$) görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. Disülfid azalması ve doğal tiyol düzeylerinin artması nedeniyle tiyol/disülfid dengesi indirgeyici tarafa kaymıştır. Sayısal bir fark gözlense de istatistiki bir anlamlılık saptanamamıştır. Literatürde birbiri ile çelişen sonuçlar mevcuttur. OA'nın etyopatogenezi, evresi, mekanizması gibi değişken durumlar sistemik oksidan-antioksidan durumu etkileyebileceği kanaatindeyiz. Literatürde deneysel OA çalışmalarında DTDH'i çalışması çok sınırlıdır. Histopatolojik olarak anlamlı sonuç veren NAC tedavimizin biyokimyasal olarak anlamlı görülememesinde düşük doz MIA ile ılımlı bir OA oluşturulması kaynaklı da olabileceği kanaatindeyiz.

Kazuo ve ark. (180) yapmış olduğu in vivo çalışmada OA'da aynı eklem kıkırdak örneğinden alınan bozulmamış bölgelere göre dejenere olan bölgelerde antioksidatif potansiyelin önemli ölçüde daha düşük olduğunu gösterilmiş. Dejenere kıkırdakta oksidatif stres ve kondrositlerin in vitro ve in vivo disfonksiyonu, OA gelişiminde oksidatif stresin bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Çalışmanın çıkarımında antioksidan ajanların oksidatif stres kaynaklı kıkırdak dejenerasyonunu önlemede ve üstesinden gelmede etkili olduğunu önermektedir. Nakagawa ve ark. (2) yaptığı diğer bir in vivo çalışma, OA'nın bir murin deneysel modelinde NAC'ın etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştı. Sıçan kondrositlerini çıkarıp izole ettiler ve sodyum nitroprussid dehidrat uyguladılar, NO üretip, apoptozu teşvik ettiler. Hücreler daha sonra sonuçların doğasını belirlemek için çeşitli NAC konsantrasyonları ile işlendi. Yazarlar, birden fazla biyokimyasal tahlil yaptıktan sonra, NAC'ın NO kaynaklı

apoptozu, aşırı ROS üretimini, p53 yukarı regülasyonunu ve kaspaz-3 aktivasyonunu önleyebildiğini öğrendi. NAC, kondrosit apoptozunu ve kıkırdak dejenerasyonunu önlemede iyimser sonuçlar verdi. Bir yan notta, NAC'ın in vivo uygulamayı takiben eklem dokusuna oldukça hızlı bir şekilde yayıldığı görüldü. Bu veriler de biz klinisyenleri NAC uygulamalarının in vitro çalışmalar ile vereceği sonuçları araştırmaya sevk etti.

Oksijen radikallerin bir temizleyicisi olan, NAC, doğrudan ROS ile etkileşime girebilir. Bu çalışmada, NAC varlığının in vitro olarak tedavi edilen sıçan kondrositlerinde OA'nın ilerlemesinin yavaşladığını tedavi gruplarında anlamlı düzeyde histopatolojik olarak gözlemledik. Oksidatif parametrelerin NAC tedavisi ile tedavi edilerek apoptozda anlamlı gerileme ve yavaşlama sağlandığı izlendi. Tedavi grubunda hem Mankin skorunda hem de apoptoz indeksindeki anlamlı fark saptanması oral NAC tedavisi ile diz OA modelinde tedaviye yanıt alındığına işaret etmektedir. Biyokimyasal olarak DTDH'nin gruplar arasında anlamlı fark oluşturmaması literatürdeki sınırlı sayıdaki çalışmaya devam niteliğindedir. Literatür incelendiğinde görülmektedir ki; OA'da oksidatif stres parametrelerinin artışı çelişkilidir. OA modelimizde lokal etki ile ılımlı OA oluşturulması veya deney gruplarındaki kısıtlı denek sayısı DTDH değerlerimizin istatistiki olarak anlamlı olmamasında etken olabileceği kanaatindeyiz. Biyokimyasal olarak anlamlı bir sonuç görülmesi de histopatolojik olarak diz eklem OA'sında düzelme sağlanması NAC tedavisinin etkin ve güvenli bir tedavi olabileceği konusunda literatürü desteklemektedir.

6. ÇIKARIM

Önemli bir halk sağlığı sorunu olan OA, etyopatogenezi ve tedavisi hala birçok bilinmezlikler içermektedir. Deneysel olarak indüklenen OA'nın sıçan modelini kullanarak, NAC'in kondrosit apoptozunu in vitro olarak önemli ölçüde önlediğini histopatolojik veriler ile gözlemledik. Buna karşın, biyokimyasal değerlendirmede ise; NAC tedavisi ile oksidatif strese bir değişiklik izlenememiştir. NAC'ın OA modelindeki histopatolojik olarak olumlu tedavi edici etkisi bize; gelecekte NAC tedavisinin diğer birçok hastalıkta olduğu gibi OA'da da faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Doz-süre, OA evre, kan alınma zamanı gibi değişkenlerin varyasyonları ile oluşturulacak OA çalışma modellerinin bu durumu aydınlatma konusunda yardımcı olabileceği kanaatindeyiz. Bu nedenle, NAC uygulamasının OA tedavisindeki etkinliği daha fazla kanıtlamak için; yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

1. Brandt KD, Dieppe P, Radin EL. Commentary: Is It Useful to Subset “Primary” Osteoarthritis? A Critique Based on Evidence Regarding the Etiopathogenesis of Osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2009;39(2).
2. Nakagawa S, Arai Y, Mazda O, Kishida T, Takahashi KA, Sakao K, et al. N-acetylcysteine prevents nitric oxide-induced chondrocyte apoptosis and cartilage degeneration in an experimental model of osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2010;28(2).
3. Davies CM, Guilak F, Weinberg JB, Fermor B. Reactive nitrogen and oxygen species in interleukin-1-mediated DNA damage associated with osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2008;16(5).
4. Henrotin Y, Kurz B, Aigner T. Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: Friends or foes? Vol. 13, *Osteoarthritis and Cartilage.* 2005.
5. Kuyinu EL, Narayanan G, Nair LS, Laurencin CT. Animal models of osteoarthritis: Classification, update, and measurement of outcomes. Vol. 11, *Journal of Orthopaedic Surgery and Research.* 2016.
6. Taylor N. Nonsurgical Management of Osteoarthritis Knee Pain in the Older Adult. Vol. 33, *Clinics in Geriatric Medicine.* 2017.
7. Bruyere O, Cooper C, Pelletier J-PP, Branco J, Luisa Brandi M, Guillemin F, et al. An algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2014;44(3).
8. Ziment I. Acetylcysteine: A drug with an interesting past and a fascinating future. *Respiration.* 1986;50(SUPPL. 1).
9. Matera M, Calzetta L, Cazzola M. Oxidation pathway and exacerbations in COPD: The role of NAC. Vol. 10, *Expert Review of Respiratory Medicine.* 2016.
10. Cazzola M, Calzetta L, Facciolo F, Rogliani P, Matera MG. Pharmacological investigation on the anti-oxidant and anti-inflammatory activity of N-acetylcysteine in an ex vivo model of COPD exacerbation. *Respir Res.* 2017;18(1).
11. Ueno T, Yamada M, Sugita Y, Ogawa T. N-acetyl cysteine protects TMJ chondrocytes from oxidative stress. *J Dent Res.* 2011;90(3).
12. Copeman WSC. Commentaries on the History and Cure of Diseases, by William Heberden M.D., facsimile of London 1802 edition, with preface by Paul Klemperer (History of Medicine series, no. 18), New York, Hafner Publishing Co., 1962, pp. 483, \$3.00. *Med Hist.* 1963;7(3).
13. Biermer. The nature and treatment of Gout and rheumatic Gout. *Arch für Pathol Anat und Physiol und für Klin Med.* 1861;21(1).
14. Chu CR, Millis MB, Olson SA. Osteoarthritis: From palliation to prevention AOA critical issues. Vol. 96, *Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume.* 2014.
15. Lespasio MJ, Piuze NS, Husni ME, Muschler GF, Guarino A, Mont MA. Knee Osteoarthritis: A Primer. Vol. 21, *The Permanente journal.* 2017.
16. Arden N, Cooper C editors. osteoarthritis handbook. *Osteoarthr Handb.* 2016;
17. Sellam J, Berenbaum F. Is osteoarthritis a metabolic disease? Vol. 80, *Joint Bone Spine.* 2013.
18. Jüni P, Hari R, Rutjes AWS, Fischer R, Silleta MG, Reichenbach S, et al. Intra-articular corticosteroid for knee osteoarthritis. Vol. 2015, *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2015.

19. Chahla J, Piuze NS, Mitchell JJ, Dean CS, Pascual-Garrido C, LaPrade RF, et al. Intra-articular cellular therapy for osteoarthritis and focal cartilage defects of the knee: A systematic review of the literature and study quality analysis. *J Bone Jt Surg - Am Vol.* 2016;98(18).
20. Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: Epidemiology. Vol. 20, *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology.* 2006.
21. Evaniew N, Simunovic N, Karlsson J. Cochrane in CORR®: Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2014;472(7).
22. Loia MC, Vanni S, Rosso F, Bonasia DE, Bruzzone M, Dettoni F, et al. High tibial osteotomy in varus knees: Indications and limits. *Joints.* 2016;4(2).
23. Vincent T. OSTEOARTHRITIS, 2nd edition. Kenneth Brandt, Michael Doherty, L. Stefan Lohmander. 125. Oxford University Press, Oxford. 512 pages. ISBN 0-19-850967-7. *Rheumatology.* 2004;43(5).
24. Weick JW, Bawa HS, Dirschl DR. Hyaluronic acid injections for treatment of advanced osteoarthritis of the knee: Utilization and Cost in a National Population Sample. Vol. 98, *Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume.* 2016.
25. Maduekwe UI, Zywił MG, Bonutti PM, Johnson AJ, Delanois RE, Mont MA. Scientific evidence for the use of modern unicompartmental knee arthroplasty. Vol. 7, *Expert Review of Medical Devices.* 2010.
26. Anitua E, Sánchez M, Aguirre JJ, Prado R, Padilla S, Orive G. Efficacy and safety of plasma rich in growth factors intra-articular infiltrations in the treatment of knee osteoarthritis. Vol. 30, *Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 2014.
27. Bryan D, Parvizi J, Austin M, Backe H, Valle C Della, Kolessar DJ, et al. Obesity and total joint arthroplasty. A literature based review. Vol. 28, *Journal of Arthroplasty.* 2013.
28. Wallace IJ, Worthington S, Felson DT, Jurmain RD, Wren KT, Maijanen H, et al. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(35).
29. Hutton CW. Osteoarthritis: The cause not result of joint failure? *Ann Rheum Dis.* 1989;48(11).
30. Breedveld FC. Osteoarthritis - The impact of a serious disease. Vol. 43, *Rheumatology.* 2004.
31. Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). Vol. 21, *Osteoarthritis and Cartilage.* 2013.
32. Daghestani HN, Kraus VB. Inflammatory biomarkers in osteoarthritis. Vol. 23, *Osteoarthritis and Cartilage.* 2015.
33. Greene MA, Loeser RF. Aging-related inflammation in osteoarthritis. Vol. 23, *Osteoarthritis and Cartilage.* 2015.
34. Deshpande BR, Katz JN, Solomon DH, Yelin EH, Hunter DJ, Messier SP, et al. Number of Persons With Symptomatic Knee Osteoarthritis in the US: Impact of Race and Ethnicity, Age, Sex, and Obesity. *Arthritis Care Res.* 2016;68(12).
35. Whitesides TE. Orthopaedic Basic Science. Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System. 2nd ed. *J Bone Jt Surgery-American Vol.* 2001;83(3).
36. Heidari B. Knee osteoarthritis prevalence, risk factors, pathogenesis and features: Part I. *Casp J Intern Med.* 2011;2(2).

37. Wluka AE, Lombard CB, Cicuttini FM. Tackling obesity in knee osteoarthritis. Vol. 9, *Nature Reviews Rheumatology*. 2013.
38. Ertürk C, Altay MA, Sert C, Levent A, Yaptı M, Yüce K. The body composition of patients with knee osteoarthritis: relationship with clinical parameters and radiographic severity. *Aging Clin Exp Res*. 2015;27(5).
39. Poole R, Blake S, Buschmann M, Goldring S, Lavery S, Lockwood S, et al. Recommendations for the use of preclinical models in the study and treatment of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2010;18(SUPPL. 3).
40. Freitag J, Bates D, Boyd R, Shah K, Barnard A, Huguenin L, et al. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: Reparative pathways, safety and efficacy - A review. Vol. 17, *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2016.
41. Pintan GF, De Oliveira AS, Lenza M, Antonioli E, Ferretti M. Update on biological therapies for knee injuries: Osteoarthritis. Vol. 7, *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*. 2014.
42. Palazzo C, Nguyen C, Lefevre-Colau MM, Rannou F, Poiraudau S. Risk factors and burden of osteoarthritis. Vol. 59, *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2016.
43. Gabay O, Hall DJ, Berenbaum F, Henrotin Y, Sanchez C. Osteoarthritis and obesity: Experimental models. Vol. 75, *Joint Bone Spine*. 2008.
44. Vina ER, Kwok CK. Epidemiology of osteoarthritis: Literature update. Vol. 30, *Current Opinion in Rheumatology*. 2018.
45. Orłowsky EW, Kraus VB. The role of innate immunity in osteoarthritis: When our first line of defense goes on the offensive. Vol. 42, *Journal of Rheumatology*. 2015.
46. Gay C, Chabaud A, Guilley E, Coudeyre E. Educating patients about the benefits of physical activity and exercise for their hip and knee osteoarthritis. Systematic literature review. Vol. 59, *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2016.
47. Litwic A, Edwards MH, Dennison EM, Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. *Br Med Bull*. 2013;105(1).
48. Goldring SR, Goldring MB. Bone and cartilage in osteoarthritis: Is what's best for one good or bad for the other? Vol. 12, *Arthritis Research and Therapy*. 2010.
49. Kraus VB, Blanco FJ, Englund M, Karsdal MA, Lohmander LS. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use. Vol. 23, *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015.
50. Gullahorn L, Lippiello L, Karpman R. Smoking and osteoarthritis: Differential effect of nicotine on human chondrocyte glycosaminoglycan and collagen synthesis. *Osteoarthr Cartil*. 2005;13(10).
51. de Sousa EB, Dos Santos GC, Duarte MEL, Moura Neto V, Aguiar DP. Metabolomics as a promising tool for early osteoarthritis diagnosis. Vol. 50, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2017.
52. Doral MN, Dönmez G, Atay A, Bozkurt M, Leblebicioğlu G, Üzümcügil A, Aydoğ T *Dejeneratif eklemler Hast TOTBİD (Türk Ortop ve Travmatoloji Birliği Derneği) Derg* 2007; 6(1-2) 56- 65.
53. In: Dutkowsky JP, Chapter 23: Miscellaneous Nontraumatic Disorders Canale ST, MD, editor, *Campbell's Operative Orthopaedics Volume: 1, 9th Edition*, 1998, Mosby inc; 801-811.
54. Kohn MD, Sassoon AA, Fernando ND. Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res*. 2016;474(8).

55. In: Buckwalter JA Einhorn TA Simon SR, Orthopaedic basic science, biology and biomechanics of musculoskeletal system, second edition: 1998 477-486.
56. In: Dutkowsky JP, Chapter 23: Miscellaneous Nontraumatic Disorders Canale ST, MD, editor, Campbell's Operative Orthopaedics Volume: 1, 9th Edition, 1998, Mosby inc; 801-811).
57. Wells T, Davidson C, Mörgelin M, Bird JLE, Bayliss MT, Dudhia J. Age-related changes in the composition, the molecular stoichiometry and the stability of proteoglycan aggregates extracted from human articular cartilage. *Biochem J.* 2003;370(1).
58. Man GS, Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis - a complex process that involves the entire joint. Vol. 7, *Journal of medicine and life.* 2014.
59. Scanzello CR. Role of low-grade inflammation in osteoarthritis. Vol. 29, *Current Opinion in Rheumatology.* 2017.
60. Scanzello CR, Loeser RF. Editorial: Inflammatory activity in symptomatic knee osteoarthritis: Not all inflammation is local. Vol. 67, *Arthritis and Rheumatology.* 2015.
61. Daghestani HN, Pieper CF, Kraus VB. Soluble macrophage biomarkers indicate inflammatory phenotypes in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(4).
62. Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, Van Den Berg WB, Bresnihan B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(9).
63. Reboul P, Pelletier JP, Tardif G, Cloutier JM, Martel-Pelletier J. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes: A role in osteoarthritis. *J Clin Invest.* 1996;97(9).
64. McCulloch K, Litherland GJ, Rai TS. Cellular senescence in osteoarthritis pathology. Vol. 16, *Aging Cell.* 2017.
65. Blanco FJ, Guitian R, Vázquez-Martul E, De Toro FJ, Galdo F. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis: A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum.* 1998;41(2).
66. Díaz-Gallego L, Prieto JG, Coronel P, Gamazo LE, Gimeno M, Alvarez AI. Apoptosis and nitric oxide in an experimental model of osteoarthritis in rabbit after hyaluronic acid treatment. *J Orthop Res.* 2005;23(6).
67. Wu GJ, Chen TG, Chang HC, Chiu WT, Chang CC, Chen RM. Nitric oxide from both exogenous and endogenous sources activates mitochondria-dependent events and induces insults to human chondrocytes. *J Cell Biochem.* 2007;101(6).
68. Pfeiffer S, Gorren ACF, Schmidt K, Werner ER, Hansert B, Bohle DS, et al. Metabolic fate of peroxynitrite in aqueous solution. Reaction with nitric oxide and pH-dependent decomposition to nitrite and oxygen in a 2:1 stoichiometry. *J Biol Chem.* 1997;272(6).
69. Lo YY, Conquer JA, Grinstein S, Cruz TF Interleukin-1 beta induction c-fos collagenase Expr Articul chondrocytes Involv React Oxyg species *J Cell Biochem* 1998 Apr 1;69(1)19-29.
70. Stoop R, Buma P, Van Der Kraan PM, Hollander AP, Clark Billinghamurst R, Robin Poole A, et al. Differences in type II collagen degradation between peripheral and central cartilage of rat stifle joints after cranial cruciate ligament transection. *Arthritis Rheum.* 2000;43(9).
71. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy.* 1997;13(4).
72. In: Miller MD, Section 2: joints, Review of orthopaedics, third edition, WB Saunders Company, Philadelphia-Pennsylvania 2000: 50.

73. In: Miller MD, Thompson SR Miller's Review of Orthopaedics 7 ed Miller MD, Thompson SR, editors Philadelphia, USA: Elsevier; 2015 1-147.
74. Christgau S, Garnero P, Fledelius C, Moniz C, Ensig M, Gineyts E, et al. Collagen type II C-telopeptide fragments as an index of cartilage degradation. *Bone*. 2001;29(3).
75. Kumm J, Tamm A, Lintrop M, Tamm A. Diagnostic and prognostic value of bone biomarkers in progressive knee osteoarthritis: A 6-year follow-up study in middle-aged subjects. *Osteoarthr Cartil*. 2013;21(6).
76. Verma P, Dalal K. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in knee osteoarthritis: A novel diagnostic and prognostic biomarker. *J Orthop Res*. 2013;31(7).
77. Pelletier JP, Raynauld JP, Caron J, Mineau F, Abram F, Dorais M, et al. Decrease in serum level of matrix metalloproteinases is predictive of the disease-modifying effect of osteoarthritis drugs assessed by quantitative MRI in patients with knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(12).
78. Swearingen CA, Carpenter JW, Siegel R, Brittain IJ, Dotzlauf J, Durham TB, et al. Development of a novel clinical biomarker assay to detect and quantify aggrecanase-generated aggrecan fragments in human synovial fluid, serum and urine. *Osteoarthr Cartil*. 2010;18(9).
79. Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. Vol. 7, *Nature Reviews Rheumatology*. 2011.
80. Hart PH, Ahern MJ, Smith MD, Finlay-Jones JJ. Comparison of the suppressive effects of interleukin-10 and interleukin-4 on synovial fluid macrophages and blood monocytes from patients with inflammatory arthritis. *Immunology*. 1995;84(4).
81. Jovanovic D, Pelletier JP, Alaaeddine N, Mineau F, Geng C, Ranger P, et al. Effect of IL-13 on cytokines, cytokine receptors and inhibitors on human osteoarthritis synovium and synovial fibroblasts. *Osteoarthr Cartil*. 1998;6(1).
82. Shingu M, Miyauchi S, Nagai Y, Yasutake C, Horie K. The role of IL-4 and IL-6 in IL-1-dependent cartilage matrix degradation. *Rheumatology*. 1995;34(2).
83. Vannier E, Miller LC, Dinarello CA. Coordinated antiinflammatory effects of interleukin 4: Interleukin 4 suppresses interleukin 1 production but up-regulates gene expression and synthesis of interleukin 1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(9).
84. Loo FAJV De, Joosten LAB, Van Lent PLEM, Arntz OJ, Van Den Berg WB. Role of interleukin-1, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in cartilage proteoglycan metabolism and destruction effect of in situ blocking in murine antigen- and zymosan-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995;38(2).
85. Brown RA, Weiss JB. Neovascularisation and its role in the osteoarthritic process. Vol. 47, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1988.
86. Fransès RE, McWilliams DF, Mapp PI, Walsh DA. Osteochondral angiogenesis and increased protease inhibitor expression in OA. *Osteoarthr Cartil*. 2010;18(4).
87. Mapp PI, Walsh DA. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis. Vol. 8, *Nature Reviews Rheumatology*. 2012.
88. Ludin A, Sela JJ, Schroeder A, Samuni Y, Nitzan DW, Amir G. Injection of vascular endothelial growth factor into knee joints induces osteoarthritis in mice. *Osteoarthr Cartil*. 2013;21(3).
89. Miller RE, Tran PB, Das R, Ghoreishi-Haack N, Ren D, Miller RJ, et al. CCR2 chemokine receptor signaling mediates pain in experimental osteoarthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*.

2012;109(50).

90. Chauffier K, Laiguillon MC, Bougault C, Gosset M, Priam S, Salvat C, et al. Induction of the chemokine IL-8/Kc by the articular cartilage: Possible influence on osteoarthritis. *Jt Bone Spine*. 2012;79(6).
91. Zhu H, Jia Z, Misra H, Li YR. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: Updated experimental and clinical evidence. Vol. 13, *Journal of Digestive Diseases*. 2012.
92. Lepetsos P, Papavassiliou AG. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. Vol. 1862, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2016.
93. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. Vol. 295, *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. 2008.
94. Tootsi K, Märtsen A, Kals J, Paapstel K, Zilmer M. Metabolic factors and oxidative stress in osteoarthritis: a case-control study. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(7).
95. No Title. Kayalı R, Çakatay U [Basic Mech protein oxidation] *Cerrahpaşa J Med* 2004;35 83-9 [Article Turkish].
96. Ustundag Y, Huysal K, Kahvecioglu S, Demirci H, Yavuz S, Sambel M, et al. Establishing reference values and evaluation of an in-house ferric reducing antioxidant power (FRAP) colorimetric assay in microplates. *Eur Res J*. 2016;0(0).
97. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. In: *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000.
98. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: The central contribution of albumin to redox processes. Vol. 65, *Free Radical Biology and Medicine*. 2013.
99. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. Vol. 47, *Free Radical Biology and Medicine*. 2009.
100. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Vol. 48, *Free Radical Biology and Medicine*. 2010.
101. Biswas S, Chida AS, Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: Emerging roles in cell signaling. Vol. 71, *Biochemical Pharmacology*. 2006.
102. Ellman G, Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal Biochem*. 1979;93(C).
103. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*. 2014;47(18).
104. Maruotti N, Corrado A, Cantatore FP. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. Vol. 232, *Journal of Cellular Physiology*. 2017.
105. Selten EMH, Vrieseckolk JE, Schers HJ, Nijhof MW, Van Der Laan WH, Van Der Meulen-Dilling RG, et al. Development of the “treatment beliefs in knee and hip OsteoArthritis (TOA)” questionnaire. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1).
106. Lee YC, Nassikas NJ, Clauw DJ. The role of the central nervous system in the generation and maintenance of chronic pain in rheumatoid arthritis, osteoarthritis and fibromyalgia. Vol. 13, *Arthritis Research and Therapy*. 2011.
107. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Nuñez-Córdoba JM, Sánchez-

- Echenique C, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: Multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med*. 2016;14(1).
108. Mobasheri A. The future of osteoarthritis therapeutics: Emerging biological therapy. *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15(12).
 109. Bannuru RR, Schmid CH, Kent DM, Vaysbrot EE, Wong JB, McAlindon TE. Comparative Effectiveness of Pharmacologic Interventions for Knee Osteoarthritis. *Ann Intern Med*. 2015;162(1).
 110. Shen L, Yuan T, Chen S, Xie X, Zhang C. The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Orthop Surg Res*. 2017;12(1).
 111. Hochberg MC, Martel-Pelletier J, Monfort J, Möller I, Castillo JR, Arden N, et al. Combined chondroitin sulfate and glucosamine for painful knee osteoarthritis: A multicentre, randomised, double-blind, non-inferiority trial versus celecoxib. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(1).
 112. Yuan XL, Meng HY, Wang YC, Peng J, Guo QY, Wang AY, et al. Bone-cartilage interface crosstalk in osteoarthritis: Potential pathways and future therapeutic strategies. Vol. 22, *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014.
 113. Whittaker JL, Truong LK, Dhiman K, Beck C. Osteoarthritis year in review 2020: rehabilitation and outcomes. Vol. 29, *Osteoarthritis and Cartilage*. 2021.
 114. Byra J, Czernicki K. The Effectiveness of Virtual Reality Rehabilitation in Patients with Knee and Hip Osteoarthritis. *J Clin Med*. 2020;9(8).
 115. Beswick AD, Wylde V, Gooberman-Hill R, Blom A, Dieppe P. What proportion of patients report long-term pain after total hip or knee replacement for osteoarthritis? A systematic review of Prospective studies in unselected patients. Vol. 2, *BMJ Open*. 2012.
 116. Hurst GA, Shaw PB, LeMaistre CA. Laboratory and clinical evaluation of the mucolytic properties of acetylcysteine. *Am Rev Respir Dis*. 1967;96(5).
 117. Balsamo R, Lanata L, Egan CG. Mucoactive drugs. Vol. 19, *European Respiratory Review*. 2010.
 118. Whitehouse LW, Wong LT, Paul CJ, Pakuts A, Solomonraj G. Postabsorption antidotal effects of N-acetylcysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985;63(5).
 119. Dodd S, Dean O, Copolov DL, Malhi GS, Berk M. N-acetylcysteine for antioxidant therapy: Pharmacology and clinical utility. Vol. 8, *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2008.
 120. Yamada M, Ishihara K, Ogawa T, Sakurai K. The inhibition of infection by wound pathogens on scaffold in tissue-forming process using N-acetyl cysteine. *Biomaterials*. 2011;32(33).
 121. Elbini Dhouib I, Jallouli M, Annabi A, Gharbi N, Elfazaa S, Lasram MM. A minireview on N-acetylcysteine: An old drug with new approaches. Vol. 151, *Life Sciences*. 2016.
 122. Fishbane S. N-acetylcysteine in the prevention of contrast-induced nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(1).
 123. No Title. Jatana M, Giri S, Ansari MA, Elango C, Singh AK, Singh I, Khan M Inhib NF-kappaB Act by 5-lipoxygenase Inhib Prot brain against Inj a rat Model focal Cereb ischemia *J Neuroinflammation* 2006 May 11;3:12.
 124. Ozcamdalli M, Misir A, Kizkapan TB, Uzun E, Duygulu F, Yazici C, et al. Comparison of Intra-

- articular Injection of Hyaluronic Acid and N-Acetyl Cysteine in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Pilot Study. *Cartilage*. 2017;8(4).
125. NAC® 600 mg Efervesan Tablet . kısa ürün bilgisi. “<https://pdf.ilacprospektusu.com/5325-nac-600-efervesan-tablet-kub.pdf>”. 01.07.2021.
 126. Vanderbist F, Maes P, Nève J. In vitro comparative assessment of the antioxidant activity of nacistelyn against three reactive oxygen species. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res*. 1996;46(8).
 127. Kondo H, Takahashi M, Niki E. Peroxynitrite-induced hemolysis of human erythrocytes and its inhibition by antioxidants. *FEBS Lett*. 1997;413(2).
 128. Sueishi Y, Hori M, Ishikawa M, Matsu-ura K, Kamogawa E, Honda Y, et al. Scavenging rate constants of hydrophilic antioxidants against multiple reactive oxygen species. *J Clin Biochem Nutr*. 2014;54(2).
 129. Ates B, Abraham L, Ercal N. Antioxidant and free radical scavenging properties of N-acetylcysteine amide (NACA) and comparison with N-acetylcysteine (NAC). *Free Radic Res*. 2008;42(4).
 130. Sagristá ML, Garécia AF, Africa De Madariaga M, Mora M. Antioxidant and pro-oxidant effect of the thiolic compounds N-acetyl-L-cysteine and glutathione against free radical-induced lipid peroxidation. *Free Radic Res*. 2002;36(3).
 131. Michelucci A, De Marco A, Guarnier FA, Protasi F, Boncompagni S. Antioxidant treatment reduces formation of structural cores and improves muscle function in RYR1Y522S/WT mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.
 132. Dhanda S, Kaur S, Sandhir R. Preventive effect of N-acetyl-L-cysteine on oxidative stress and cognitive impairment in hepatic encephalopathy following bile duct ligation. *Free Radic Biol Med*. 2013;56.
 133. Ortiz MS, Forti KM, Suárez Martinez EB, Muñoz LG, Husain K, Muñoz WH Eff Antioxid N-acetylcysteine Against Paraquat-Induced Oxidative Stress Vital Tissues Mice *Int J Sci Basic Appl Res* 2016;26(1)26-46.
 134. Zembron-Lacny A, Slowinska-Lisowska M, Szygula Z, Witkowski K, Szyszka K. The comparison of antioxidant and hematological properties of n-acetylcysteine and α -lipoic acid in physically active males. *Physiol Res*. 2009;58(6).
 135. Zhang L, Xu S, Huang Q, Xu H. N-acetylcysteine attenuates the cuprizone-induced behavioral changes and oligodendrocyte loss in male C57BL/7 mice via its anti-inflammation actions. *J Neurosci Res*. 2018;96(5).
 136. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. Vol. 52, *Free Radical Research*. 2018.
 137. Setti T, Arab MGL, Santos GS, Alkass N, Andrade MAP, Lana JFSD. The protective role of glutathione in osteoarthritis. Vol. 15, *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. 2021.
 138. He Y, Wu Z, Xu L, Xu K, Chen Z, Ran J, et al. The role of SIRT3-mediated mitochondrial homeostasis in osteoarthritis. Vol. 77, *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020.
 139. Janusz MJ, Hookfin EB, Heitmeyer SA, Woessner JF, Freemont AJ, Hoyland JA, et al. Moderation of iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats by matrix metalloproteinase inhibitors. *Osteoarthr Cartil*. 2001;9(8).

140. Takahashi I, Matsuzaki T, Hosono M. Long-term histopathological developments in knee-joint components in a rat model of osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *J Phys Ther Sci*. 2017;29(4).
141. Gonçalves JF, Spanevello RM, Fiorenza AM, Mazzanti CM, Bagatini MD, da Rosa CS, et al. NTPDase and 5'-nucleotidase activities from synaptosomes and platelets of rats exposed to cadmium and treated with N-acetylcysteine. *Int J Dev Neurosci*. 2013;31(1).
142. Takahashi I, Matsuzaki T, Kuroki H, Hosono M. Joint unloading inhibits articular cartilage degeneration in knee joints of a monosodium iodoacetate-induced rat model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartil*. 2019;27(7).
143. Laulan J, Marteau E, Bacle G. Wrist osteoarthritis. Vol. 101, *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research*. 2015.
144. Thomas AC, Hubbard-Turner T, Wikstrom EA, Palmieri-Smith RM. Epidemiology of posttraumatic osteoarthritis. Vol. 52, *Journal of Athletic Training*. 2017.
145. Nguyen USDT, Zhang Y, Zhu Y, Niu J, Zhang B, Felson DT. Increasing prevalence of knee pain and symptomatic knee osteoarthritis: Survey and cohort data. *Ann Intern Med*. 2011;155(11).
146. Zhang Y, Jordan JM. *Epidemiol Osteoarthritis Clin Geriatr Med* 2010;26355–369).
147. Nelson AE. Osteoarthritis year in review 2017: clinical. Vol. 26, *Osteoarthritis and Cartilage*. 2018.
148. Egloff C, Hügle T, Valderrabano V. Biomechanics and pathomechanisms of osteoarthritis. Vol. 142, *Swiss Medical Weekly*. 2012.
149. Cucchiari M, de Girolamo L, Filardo G, Oliveira JM, Orth P, Pape D, et al. Basic science of osteoarthritis. *J Exp Orthop*. 2016;3(1).
150. Shen J, Abu-Amer Y, O'Keefe RJ, McAlinden A. Inflammation and epigenetic regulation in osteoarthritis. Vol. 58, *Connective Tissue Research*. 2017.
151. Wang H, Bai J, He B, Hu X, Liu D. Osteoarthritis and the risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of observational studies. *Sci Rep*. 2016;6.
152. Veronese N, Cereda E, Maggi S, Luchini C, Solmi M, Smith T, et al. Osteoarthritis and mortality: A prospective cohort study and systematic review with meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2016;46(2).
153. Sharma A, Kudesia P, Shi Q, Gandhi R. Anxiety and depression in patients with osteoarthritis: Impact and management challenges. *Open Access Rheumatol Res Rev*. 2016;8.
154. Bianco D, Todorov A, Čengić T, Pagenstert G, Schären S, Netzer C, et al. Alterations of subchondral bone progenitor cells in human knee and hip osteoarthritis lead to a bone sclerosis phenotype. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2).
155. Pelletier JP, Boileau C, Altman RD, Martel-Pelletier J. Experimental models of osteoarthritis: Usefulness in the development of disease-modifying osteoarthritis drugs/agents. Vol. 7, *Therapy*. 2010.
156. Kim JE, Song DH, Kim SH, Jung Y, Kim SJ. Development and characterization of various osteoarthritis models for tissue engineering. *PLoS One*. 2018;13(3).
157. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-Iodoacetate-Induced Histologic Changes in Subchondral Bone and Articular Cartilage of Rat Femorotibial Joints: AN Animal Model of Osteoarthritis. *Toxicol Pathol*. 2003;31(6).

158. Grossin L, Cournil-Henrionnet C, Pinzano A, Gaborit N, Dumas D, Etienne S, et al. Gene transfer with HSP 70 in rat chondrocytes confers cytoprotection in vitro and during experimental osteoarthritis. *FASEB J.* 2006;20(1).
159. Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: A dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9).
160. Marker CL, Pomonis JD. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis pain in the rat. *Methods Mol Biol.* 2012;851.
161. Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, Fox A, Rediske J, Pellas T, et al. Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain.* 2004;112(1–2).
162. Wu W, Xu X, Dai Y, Xia L. Therapeutic effect of the saponin fraction from *Clematis chinensis* osbeck roots on osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate through protecting articular cartilage. *Phyther Res.* 2010;24(4).
163. Peters HC, Otto TJ, Enders JT et al. 2011. T protective role of the pericellular matrix in chondrocyte apoptosis. *TEPA* 17:2017–2024. No Title. In.
164. Perkins K, Sahy W, Beckett RD. Efficacy of Curcuma for Treatment of Osteoarthritis. *J Evidence-Based Complement Altern Med.* 2017;22(1).
165. Taruc-Uy RL, Lynch SA. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. Vol. 40, Primary Care - Clinics in Office Practice. 2013.
166. Knop E, De Paula LE, Fuller R. Platelet-rich plasma for osteoarthritis treatment. Vol. 56, *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2016.
167. Zhang HF, Wang CG, Li H, Huang YT, Li ZJ. Intra-articular platelet-rich plasma versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: A meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12.
168. Canovas F, Dagheaux L. Quality of life after total knee arthroplasty. Vol. 104, *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research.* 2018.
169. Nüesch E, Dieppe P, Reichenbach S, Williams S, Iff S, Jüni P. All cause and disease specific mortality in patients with knee or hip osteoarthritis: Population based cohort study. *BMJ.* 2011;342(7798).
170. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthr Cartil.* 2008;16(2).
171. Li WQ, Dehnade F, Zafarullah M. Thiol antioxidant, N-acetylcysteine, activates extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in articular chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;275(3).
172. Seol JW, Lee HB, Kim NS, Park SY. Tartrate-resistant acid phosphatase as a diagnostic factor for arthritis. *Int J Mol Med.* 2009;24(1).
173. Jiang L, Li L, Geng C, Gong D, Jiang L, Ishikawa N, et al. Monosodium iodoacetate induces apoptosis via the mitochondrial pathway involving ROS production and caspase activation in rat chondrocytes in vitro. *J Orthop Res.* 2013;31(3).
174. Ertürk C, Altay MA, Selek Ş, Koçyigit A. Paraoxonase-1 activity and oxidative status in patients with knee osteoarthritis and their relationship with radiological and clinical parameters. *Scand J*

Clin Lab Invest. 2012;72(5).

175. Soran N, Altindag O, Çakir H, Çelik H, Demirkol A, Aksoy N. Assessment of paraoxonase activities in patients with knee osteoarthritis. *Redox Rep.* 2008;13(5).
176. Ziskoven C, Jäger M, Zilkens C, Bloch W, Brixius K, Krauspe R. Oxidative stress in secondary osteoarthritis: from cartilage destruction to clinical presentation? *Orthop Rev (Pavia).* 2010;2(2).
177. Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Is osteoarthritis a disease involving only cartilage or other articular tissues? Vol. 21, *Eklemler Hastalıkları ve Cerrahisi.* 2010.
178. Ertürk C, Altay MA, Bilge A, Çelik H. Is there a relationship between serum ox-LDL, oxidative stress, and PON1 in knee osteoarthritis? *Clin Rheumatol.* 2017;36(12).
179. Altay MA, Ertürk C, Bilge A, Yaptı M, Levent A, Aksoy N. Evaluation of prolidase activity and oxidative status in patients with knee osteoarthritis: relationships with radiographic severity and clinical parameters. *Rheumatol Int.* 2015;35(10).
180. Yudoh K, Nguyen van T, Nakamura H, Hongo-Masuko K, Kato T, Nishioka K. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(2).
181. Martin JA, Brown TD, Heiner AD, Buckwalter JA. Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 2004.
182. Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M. Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2007;27(4).
183. Altinel Acoglu E, Erel O, Yazilitas F, Bulbul M, Oguz MM, Yucel H, et al. Changes in thiol/disulfide homeostasis in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Int.* 2018;60(6).
184. Kundi H, Ates I, Kiziltunc E, Cetin M, Cicekcioglu H, Neselioglu S, et al. A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; Thiol/disulphide homeostasis. *Am J Emerg Med.* 2015;33(11).
185. Tuzcu A, Baykara RA, Omma A, Acet GK, Dogan E, Cure MC, et al. Thiol/Disulfide homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Rom J Intern Med.* 2019;57(1).
186. Dogru A, Balkarli A, Cetin GY, Neselioglu S, Erel O, Tunc SE, et al. Thiol/disulfide homeostasis in patients with ankylosing spondylitis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2016;16(3).
187. Tetik S, Ahmad S, Alturfan AA, Fresko I, Disbudak M, Sahin Y, et al. Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients. *Indian J Biochem Biophys.* 2010;47(6).
188. Güvenç K, Altun ŞC, Ergin M, Erel Ö, İlik F. Dynamic thiol-disulphide homeostasis in grade 3-4 gonarthrosis. *Eur Res J.* 2019;