



## Avokado/soya fasüyesinin sabunlaşmayan ekstresi verilen köpeklerin dizlerinde osteokondral defekt iyileşmesi: Bir karşılaştırmalı morfometrik analiz

Healing of osteochondral defects in canine knee with avocado/soybean unsaponifiables:  
a morphometric comparative analysis

Levent Altınel,<sup>1</sup> Önder Şahin,<sup>2</sup> Kamil Çağrı Köse,<sup>1</sup> Orhan Baş,<sup>3</sup> Oğuz Aslan Özen,<sup>4</sup>  
Z. Kadir Sarıtaş,<sup>5</sup> Kamuran Pamuk<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye;

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye;

<sup>3</sup>Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Rize, Türkiye;

<sup>4</sup>Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye;

<sup>5</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Afyon, Türkiye

**Amaç:** Bu çalışmada avokado/soya fasüyesinin sabunlaşmayan ekstresinin (ASE) köpek osteokondral defekt modelinde iyileşmeye etkisi belirlendi.

**Gereç ve yöntemler:** On dört köpek çalışmaya alındı ve rastgele olarak iki gruba ayrıldı. Diz eklemının troklear oluşunun lateral yüzünde iki adet osteokondral defekt oluşturuldu. Tedavi grubuna (grup 1; n=7) her üç günde bir 300 mg'lık ASE kapsülleri, kontrol grubuna (grup 2; n=7) ise normal diyet verildi. On beş hafta sonrasında ötenazi yapılana kadar hayvanlar kafesler içinde serbest gezinmeye bırakıldı. Dizler açılarak defektli troklear oluklar patolojik inceleme için çıkarıldı. Rejenere doku miktarı görüntü analiz yöntemiyle kantitatif olarak, doku içeriği ise Safranin-O ve Masson trikrom histokimyasal boyamaları ile semikantitatif olarak değerlendirildi. Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) artışı, immünohistokimyasal boyama yöntemiyle semikantitatif olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Morfometrik analiz sonucunda grup 1'de anlamlı ölçüde daha fazla immatür iyileşme dokusu saptandı (p<0.002). Grup 1'de rejenere dokuda hem kollajen hem de kondral doku içeriği anlamlı ölçüde artmıştı (p<0.002). Grup 2'ye kıyasla grup 1'de kıkırdak dokusunda TGF- $\beta$  immün boyanma reaksiyonu çok daha belirgindi.

**Sonuç:** Avokado/soya fasüyesinin sabunlaşmayan ekstresi ile yapılan tedavi, köpek dizinde osteokondral defekt iyileşmesini uyarmakta ve muhtemelen dokuda TGF- $\beta$ 'yı artırarak bu etkiyi sağlamaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Hayvan deneyleri; avokado/soya fasüyesinin sabunlaşmayan ekstresi; osteokondral defekt iyileşmesi.

**Objectives:** This study aims to determine the effects of avocado/soybean unsaponifiables (ASU) on healing in a canine osteochondral defect model.

**Materials and methods:** Fourteen dogs were included in the study and randomly divided into two groups. Two osteochondral defects were produced in the lateral aspect of the trochlear groove of the knee joint. The treatment group (group 1; n=7) was given 300 mg ASU capsules every three days whereas the control group (group 2; n=7) was given a normal diet. Animals were then allowed to ambulate normally until euthanasia at 15 weeks. The knees were dissected and the trochlear grooves with defects were removed for pathological examination. The amount of regenerated tissue was determined quantitatively using image analysis and the tissue content was evaluated semi-quantitatively using Safranin-O and Masson trichrome histochemical stains. Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) increase was evaluated semi-quantitatively with immunohistochemical staining methods.

**Results:** Morphometric analysis revealed a significantly more immature repair tissue in group 1 (p<0.002). Both collagen and chondral tissue content of the regenerated tissue were significantly increased in group 1 (p<0.002). Compared to that in group 2, cartilage tissue in group 1 showed a much more marked immunostaining reaction of TGF- $\beta$ .

**Conclusion:** Avocado/soybean unsaponifiables treatment stimulates the healing of the osteochondral defects in canine knee possibly by increasing TGF- $\beta$  in the tissues.

**Key words:** Animal experiments; avocado/soybean unsaponifiables; osteochondral defect healing.

Eklem kıkırdak hasarları genellikle travma, primer osteoartrit veya osteokondritis dissekans gibi hastalıklardan kaynaklanır. Subkondral tabakayı geçen eklem kıkırdak hasarları (tam kat defektler), kemik iliği ve vasküler kaynaklı mezankim hücreleri sayesinde sınırlı spontan iyileşme potansiyeline sahiptir.<sup>[1]</sup> Fakat bu potansiyel kalitatif ve kantitatif açıdan çok değişkenlik gösterir.

Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi (ASE), insanda osteoartrit semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır. Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi muhtemelen dönüştürücü büyüme faktörü beta (transforming growth factor beta; TGF- $\beta$ ) üretimini artırması ve matriks metalloproteinaz üretimini azaltması sayesinde kondrositlerin matriks sentezini uyarmaktadır.<sup>[2]</sup> Dönüştürücü büyüme faktörü beta da kondrositlerde, tip II kollojen ve proteoglikan (PG)'lar gibi ekstraselüler matriksin üretimini uyarmaktadır.<sup>[3]</sup> Ayrıca in vitro ortamda osteokondral defektteki tamir dokusunun farklılaşmasına yardımcı olmaktadır.<sup>[4]</sup> Dönüştürücü büyüme faktörü beta kartilaj tamirinde önemli bir uyarıcı olmasına rağmen, klinik uygulamalarda henüz güvenle kullanılmamaktadır.

Canlıda ASE'nin tam kat eklem kıkırdak lezyonlarına etkisi henüz ortaya konulmamıştır. Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi verilen sağlıklı köpeklerin diz eklem sıvısında TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.<sup>[5]</sup> Bizim çalışma hipotezimiz, ASE tedavisinin dokuda TGF- $\beta$  salınımını artıracak ve bu sayede kıkırdak defektinin iyileşmesini hızlandıracağı şeklindeydi.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Hayvan modeli ve cerrahi yöntem

Bu deneysel çalışma için Üniversitemiz Veterinerlik Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'ndan izin alındı. On dört sağlıklı erişkin (1.5-3 yaş arasında) 25-30 kg arasında, erkek çoban köpeği sokak hayvanı çalışmaya alındı. Köpekler rastgele olarak iki eşit gruba ayrıldı. Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi tedavisinde günlük insan dozu 300 mg'dir fakat köpekler üzerinde yapılmış doz çalışması yoktur. İnsan dozu (4 mg/kg/gün) referans alınarak, ortalama 25 kg olan köpeklere 100 mg ilaç verilmesi planlandı. Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi (Piascledine 300 mg kapsül, Laboratoires Expanscience, Courbevoie, France), avokado ve soya fasülyesi yağının 1:2 oranında karışımıdır. İlacın kapsül formunda olması ve eşit 100 mg'lık parçalara bölünme zorluğu, ayrıca tedavi edici etkinin uzun zamanda oluşması nedeniyle, her üç günde bir 300 mg'lık bütün kapsül tedavi grubundaki (grup 1) hayvanlara yiyecek içinde oral yolla verildi.

Kontrol grubuna (grup 2) ise normal diyet verildi. Toplam deney süresi 15 hafta idi.

Tüm cerrahi girişimler, genel anestezi altında ve köpek sağ arka dizinde yapıldı. Eklem anteromedial yaklaşımla açıldı, 4 mm çap ve 8 mm derinliğindeki cilt pançları, üzerine 2 mm derinlik işareti konularak kullanıldı. Panç işaretlenen kısma kadar çakılarak kemik tıdemark'ı geçildi. Bu şekilde troklea lateral kısmında iki ayrı defekt oluşturuldu (Şekil 1). Kıkırdak doku küretle çıkarıldı. Subkondral kanama görüldü. Sonuçta 25.12 mm<sup>3</sup>lük iki osteokondral defekt elde edildi. Doku katları usulünce kapatıldı. Hayvanlar serbest gezinmeye bırakıldı. On beş hafta sonra ötenazi yapılarak, defekt bölgesi normal kıkırdak ve subkondral doku ile birlikte çıkarıldı. Doku histolojik ve immünohistokimyasal inceleme için %10 tampone formalin solüsyonunda bekletildi.

### Doku işleme ve histomorfometrik değerlendirme yöntemi

Dokular 48 saat formalinde tutulduktan sonra, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) solüsyonunda bir hafta dekalsifiye edildi. Örnekler durulama ve dehidratasyon sonrası, 60 °C'de parafin ile bloklandı. Mikrotom (LEICA RM 2145) ile 5  $\mu$ m kesitler alındı. Histomorfometrik değerlendirme için sistematik rastgele örnekleme yöntemi kullanılarak,<sup>[6]</sup> defekt bölgesinden yapılan her 40 kesitten bir tanesi alındı. Alınan kesitler hematoksilin eozin (H-E), Safranin-O ve Masson trikrom ile boyandı.

Oluşturulan defektin rejenere doku ile dolma miktarı, kantitatif histomorfometrik analizi yöntemiyle<sup>[7]</sup> belirlendi. Boyama sonrası elde edilen mikroskopik görüntüler IBM uyumlu bilgisayar, yüksek çözünürlüklü video monitör ve imaj analiz programı



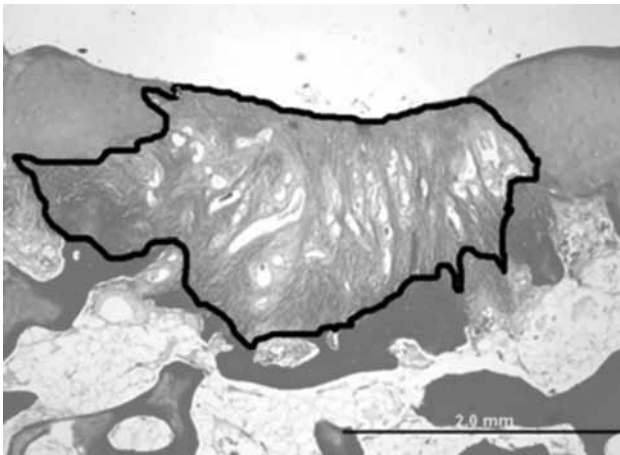
Şekil 1. Köpek dizinde, troklea oluşu lateral tarafında oluşturulan osteokondral defektler.

(BS200Docu versiyon 2.0, BAB imaj sistem, Ankara, Türkiye) ile değerlendirildi. Her bir kesit H-E ile boyandı ve defekti dolduran doku alanı mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı (Şekil 2). Sonuçlar 1/40 (200 µm) kalınlık ile çarpılarak defekt dolmuş hacmi "mm<sup>3</sup>" cinsinden elde edildi. Bu ölçümler her bir 19 kesit için yapılarak yeni oluşan toplam doku miktarı bulundu. Her bir hayvan dizinde oluşturulan iki defektin dolmuş miktarlarının ortalamaları alınarak kaydedildi.

Safranin-O ve Masson trikrom boyamalar semikantitatif olarak değerlendirildi. Tamir dokusunda kollojenize-fibröz doku oranı Masson trikrom boyama ile kondral ve amorf doku oranı ise Safranin-O boyası ile değerlendirildi. Değerler yüzde olarak verildi.

### İmmünohistokimyasal metot ve değerlendirme

Doku örneklerinin TGF-β immünohistokimyasal boyaması için 5µ kalınlığındaki parafin kesitler poly-l-lysine kaplı lamaların üzerine yerleştirildi. Ksilen içinde deparafinize edilen kesitler ve hidrasyon işleminden sonra distile su içine alındı. Yüksek frekansa mikrodalgada 95 °C'de beş dakika citrate buffer (0.01 M, pH=6.0) uygulanarak antijen alımı (antigen retrieval) yapıldı. Kesitlere endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için yedi dakika %1'lik hidrojen peroksit uygulandı ve phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. Nonspesifik boyanmayı azaltmak için kesitler ilk olarak serum blok ile 20 dakika ve daha sonra tavşan poliklonal TGF-β (Santa Cruz, CA, USA) antikoruyla iki saat süresince 37 °C'de inkübe edildi. Antikor belirlenmesi kromojen olarak 3-3' diamino-benzidin tetraklorid (DAB) (Santa Cruz, CA, USA) ve immünoCruz boyama sistemi kullanılarak yapıldı. Zemin boyaması Mayer's hematoksilenle yapıldı ve dehidrasyondan sonra Clarion Mounting Medium (Santa Cruz, CA, USA) ile kapatıldı.



Şekil 2. Görüntü analiz sistemi ile defekti dolduran rejenere doku miktarının hesaplanması (H-E x 40).

Kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Rejenere dokuda TGF-β boyanması semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirmede birincil kriter kondrosit stoplazmasının immün boyanma şiddetiydi.<sup>[8]</sup> Hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++), boyanma olarak derecelendirildi.

Grup 1 ve 2'nin istatistiksel karşılaştırmaları Windows için SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) 10.0 versiyon paket programı kullanılarak Mann-Whitney U-testi ile yapıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Rejenere dokunun histomorfometrik değerlendirmesi

Her iki deney grubu, defekti dolduran rejenere doku miktarları ve dokunun özellikleri açısından kıyaslandı. Görüntü analiz sistemi ile her bir hayvan için hesaplanan defekti dolduran ortalama rejenere doku miktarları, kontrol grubuna kıyasla tedavi grubunda daha fazla bulundu (Tablo I).

Fibrokollajen komponent Masson trikrom (Şekil 3a, b) ile, kıkırdak doku ve amorf kısım Safranin-O (Şekil 3c, d) ile boyandı. Tedavi grubunda subkondral kemik tabaka üzerinde yoğun mavi boyanmanın işaret ettiği fibrokollajen doku oluşumu tespit edildi. Bu bölgede hücresel yapının dikey kolonlar şeklinde düzenlendiği gözlemlendi. Bu dizilim özelliği de bölgede oluşan yeni kıkırdak dokusunun kıkırdak özelliğinde olduğunu düşündürdü. Buna karşılık kontrol grubunda defekt bölgesinde daha az fibrokollajen doku oluştuğu ve bölgedeki rejenere doku içinde hücrelerin düzensiz dağılımı gösterdiği görüldü. Safranin-O ile boyanan preparatlarda tedavi grubunda amorf aramada içinde kıkırdak hücresi ve proteoglikan miktarı tidemark üzerinde yoğun olarak tespit edildi. Bu durumda defektin ağırlıklı olarak kıkırdak özellikli doku ile dolduğu sonucuna varıldı. Buna karşılık kontrol grubunda amorf aramada içinde kıkırdak ve proteoglikan varlığını düşündürecek boyanma özelliği görülmedi. Bu da defekt bölgesindeki rejenere dokunun kıkırdak içermediği (veya az içerdiği) sonucuna ulaşmamızı sağladı.

Semikantitatif değerlendirme sonucunda, her iki boyama yöntemi ile boyanan kısımların miktarları, tedavi grubunda kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak fazla bulundu (p<0.002; Tablo I).

### TGF-β ile immünohistokimyasal boyanma

Rejenere dokudaki kondrositler grup 1'de daha belirgin olarak immünohistokimyasal boyanma gösterdi (Şekil 4a-d). Santral fibrokıkırdak doku ve periferik

**TABLO I**  
Rejenere doku miktarı ve spesifik boyanma oranları

	Hayvan (n)	Grup 1	Grup 2	p
Histomorfometrik analiz (mm <sup>3</sup> )	1	19.48	9.28	0.002
	2	26.73	10.23	
	3	27.05	8.12	
	4	23.96	9.19	
	5	22.54	5.98	
	6	20.25	8.18	
	7	25.99	9.20	
	Ortalama	23.7 (19.5-27.1)	8.6 (6.0-10.2)	
Safranin-O (Rejenere kondral içerik, %)	1	28.16	8.42	0.002
	2	27.63	5.53	
	3	27.89	8.47	
	4	27.89	7.11	
	5	28.16	8.95	
	6	27.37	7.37	
	7	27.89	8.16	
	Ortalama	27.9 (27.4-28.2)	7.7 (5.5-9.0)	
Masson trikrom (Rejenere fibrokollajenöz içerik, %)	1	64.47	28.16	0.002
	2	65.00	27.63	
	3	63.68	27.89	
	4	63.95	27.89	
	5	64.74	28.16	
	6	65.53	27.37	
	7	61.84	27.89	
	Ortalama	64.2 (61.2-65.6)	27.9 (27.4-28.2)	

Grup 1: Avocado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi verilen; Grup 2: Kontrol.

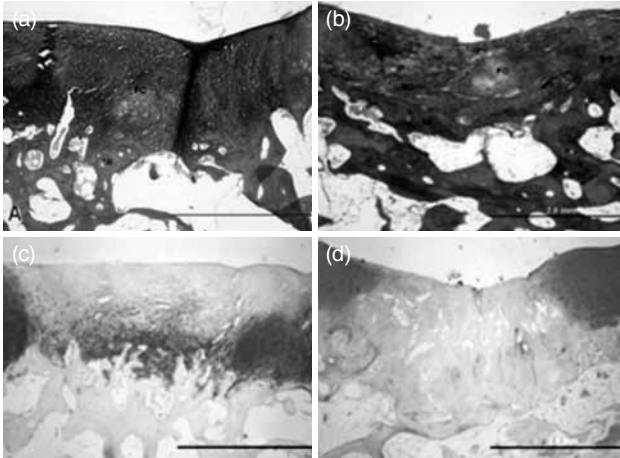
hiyalinle kıkırdak içindeki kondrositlerin stoplazmaları koyu kahverengi boyandı. Boyanan bu yerlerin hemen komşuluğunda hayvanın kendi kıkırdağında immünohistokimyasal boya tutulumu görülmedi. Bu durum ASE verilen hayvanlarda tamir dokusu içinde TGF-beta aktivitesinin fazla olduğu şeklinde yorumlandı. Buna karşılık kontrol grubunda TGF-β boyanması çok daha azdı, ASE verilmeyen grupta tamir dokusu içinde TGF-β aktivitesinin çok daha az gerçekleştiği şeklinde yorumlandı. Semikantitatif değerlendirme sonucu Tablo II'de görülmektedir.

### TARTIŞMA

Travmatik eklem kıkırdağı yaralanmaları sık rastlanmakta ve uzun dönem sakatlık, eklem disfonksiyonu ve kronik ağrıya neden olmaktadır. Yaralama sonrası eklem kıkırdağının sınırlı iyileşme kapasitesinin olması hekimleri osteokondral iyileşmeyi düzeltecek daha yeni yöntemlerin araştırılmasına yönlendirmiştir. Subkondral abrazyon, atroplasti, mikrokırık ve kıkırdak hücre transplantasyonu osteokondral lezyonların tedavisinde kullanılan yöntemlerdir. Lokal büyüme faktörleri (özellikle TGF-β ailesi) ile transfer edilen

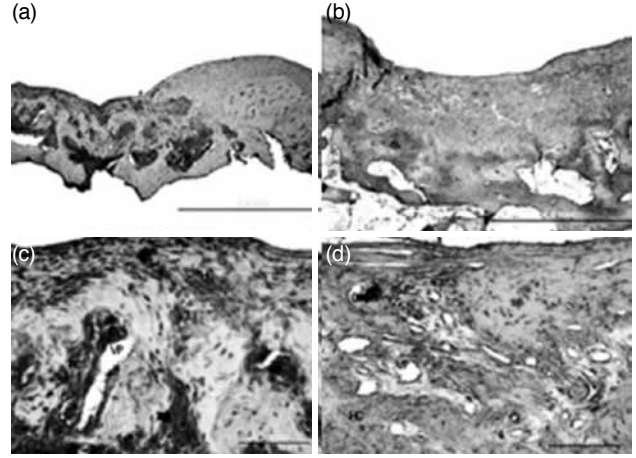
kıkırdak hücre kültürünün kombine edilmesi kondrogezi sağlamaktadır. Fakat TGF-β1'in lokal kullanımı doz ve tedavi süresine bağlı olarak eklem dejenerasyonuna yol açabilir. Sistemik kullanımı ise hayvan ölümüne yol açmıştır.<sup>[3]</sup> Günümüzde ASE, sadece osteoartritin semptomatik tedavisinde kullanılmakta olup, in vitro ortamda kondrositlerden matris sentezini artırdığı ve yıkımı azalttığı gösterilmiştir.<sup>[2]</sup> Dolayısıyla önemli bir lokal büyüme faktörü olan TGF-β1'in doğrudan lokal veya sistemik kullanım sakıncaları nedeniyle, biz çalışmamızda TGF-β salınımını sağlayan ASE'nin, osteokondral kıkırdak hasarında doku iyileşmesine fayda sağlayabileceğini düşündük. Köpek osteokondral defekt modelinde eksojen fibrin, kültüre kondrositler, osteojenik protein-7 (BMP-7) ve lipozomal TGF-β1 kullanılmış ve kıkırdak rejenerasyonuna pozitif etkileri gösterilmiştir.<sup>[9-12]</sup> Fakat bugüne kadar osteokondral kıkırdak hasarında ASE etkisini gösteren bir in vivo çalışma literatürde henüz yayınlanmamıştır.

Boumediene ve ark.<sup>[2]</sup> ASE'nin sığır kıkırdak hücre kültüründe TGF-β1 ve TGF-β2 salınımını sağladığını bildirmişlerdir. TGF-β kondrosit ve osteoblastlardan salınmakla beraber kıkırdak matrikste de bulunmakta<sup>[13]</sup>



**Şekil 3.** Her iki grupta tedavi sonrası defekti dolduran dokunun karşılaştırmalı görünümü ve boyanma özellikleri. 3a ve 3c grup 1'e, 3b ve 3d grup 2'ye ait. (a) Masson-Trikrom boyama ile koyu boyanan yerler tedavi grubunda fibrokollajen dokunun (FC) yoğun olduğunu göstermektedir. Altta subkondral tabaka görülmekte ve hücreler yer yer dikey kolumnar dizilim göstermektedir. (b) Masson-Trikrom boyama ile kontrol grubunda tedavi grubuna göre daha az fibrokollajen doku geliştiği görülüyor. Hücreler dağınık ve düzensiz görünümündedir (Masson-Trikrom, x 40). (c) Safranin-O boyamada, tedavi grubunda tidemark'ın hemen üzerinde ara madde içinde kıkırdak ve proteoglikan miktarının yoğun şekilde koyu renkte görülmektedir. (d) Kontrol grubunda Safranin-O boyanmasının daha zayıf olduğu ve defekti dolduran dokunun amorf ve düzensiz olduğu görülmektedir (Safranin-O x 40).

ve PG sentezini uyarmaktadır.<sup>[14]</sup> TGF-β'nin hayvan eklemi içine enjekte edilmesi de eklem kıkırdağında PG sentezini sağlamıştır.<sup>[15]</sup> Yine çalışmalar ASE'nin plasminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) yapımını artırdığını, bu etkinin plasmin kaskadı ve sonuçta metalloproteinaz aktivasyonunu bloke ettiğini



**Şekil 4.** (a, c) Grup 1'de TGF-β immünohistokimyasal boyanması (immünoCruz boyama sistemi, DAB kromojen ile koyu boyanma). (b, d) Grup 2'de TGF-β immünohistokimyasal boyanması. Grup 2'de fibrokartilaj dokuyu oluşturan kondrositler orta derece pozitif boyanırken, grup 1'de fibrokartilaj ve hiyalin kıkırdak dokusunu oluşturan kondrositlerde belirgin pozitif boyanma görüldü. VP: Vasküler proliferasyon; HC: Hiyalin kıkırdak; FC: Fibrokartilaj; Siyah ok: Kondrositler (optik büyütme 4a, 4b x 40; 4c, 4d x 200).

göstermiştir.<sup>[2]</sup> Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi IL-6, IL-8 ve stromelizin-1 (MMP-3) sentezini kuvvetle inhibe eder.<sup>[16]</sup> Bu bulgular ASE'nin TGF-β üzerinden eklem kıkırdak matrisini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda histomorfometrik değerlendirme sonucunda kantitatif olarak rejenere doku miktarının ASE verilen grupta daha fazla olduğunu bulduk. Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresinin rejenere dokuda, Safranin-O ve Masson trikrom boyamaları sonucunda, hem kondral hem de kollajen doku miktarını artırdığı ortaya konuldu.

**TABLO II**

Rejenere dokunun immünohistokimyasal olarak TGF-β boyanma miktarları

Grup	n	1. slayt	5. slayt	10. slayt	15. slayt	19. slayt
Grup 1	1	++	+++	++	+++	+++
	2	+++	++	+++	++	+++
	3	+++	++	+++	++	++
	4	+++	++	++	+++	++
	5	+++	++	++	+++	+++
	6	+++	++	+++	++	++
	7	+++	++	+++	+++	++
Grup 2	1	++	+	+	++	++
	2	+	++	+	+	+
	3	+	++	+	+	++
	4	+	+	+	++	+
	5	++	+	++	+	++
	6	+	++	+	+	++
	7	+	+	++	++	+

Grup 1: Avakado/soya fasülyesinin sabunlaşmayan ekstresi verilen; Grup 2: Kontrol; +: Hafif; ++: Orta derece; +++: Güçlü boyanma.

İmmünohistokimyasal boyama sonucunda ise ASE ile tedavi edilen köpeklerde rejenera dokudaki kondrositlerin stoplazmaları çok daha bariz olarak TGF- $\beta$  boyaması gösterdiği saptandı. Kollajen tip boyaması yapılmadığı için rejenera kırıldak tipini söyleyememek de elde edilen sonuçlar, ASE'nin rejenerasyon dokusunu ve rejenera dokuda TGF- $\beta$ 'yı artırması nedeniyle osteokondral hasarlarda invazif tedavilere yardımcı ajan olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir.

### Teşekkür

Çalışmamızda kullandığımız Piascledine kapsüllerini ücretsiz temin eden Liba İlaç şirketine teşekkür ederiz.

### Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

### Finansman

Çalışmamızda kullandığımız Piascledine kapsüllerini ücretsiz temin eden Liba İlaç şirketi ile ilaç temini haricinde hiçbir finansal ilişkimiz yoktur. Bu çalışmanın bir kısmı Afyon Kocatepe Üniversitesi tarafından finanse edilmiştir.

### KAYNAKLAR

- Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg [Am]* 1993;75:532-53.
- Boumediene K, Felisaz N, Bogdanowicz P, Galera P, Guillou GB, Pujol JP. Avocado/soya unsaponifiables enhance the expression of transforming growth factor beta1 and beta2 in cultured articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 1999;42:148-56.
- Grimaud E, Heymann D, Rédini F. Recent advances in TGF-beta effects on chondrocyte metabolism. Potential therapeutic roles of TGF-beta in cartilage disorders. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13:241-57.
- Nakajima H, Goto T, Horikawa O, Kikuchi T, Shinmei M. Characterization of the cells in the repair tissue of full-thickness articular cartilage defects. *Histochem Cell Biol* 1998;109:331-8.
- Altinel L, Saritas ZK, Kose KC, Pamuk K, Aksoy Y, Serteser M. Treatment with unsaponifiable extracts of avocado and soybean increases TGF-beta1 and TGF-beta2 levels in canine joint fluid. *Tohoku J Exp Med* 2007;211:181-6.
- Jørgen H, Gundersen G, Boysen M, Reith A. Comparison of semiautomatic digitizer-tablet and simple point counting performance in morphometry. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1981;37:317-25.
- Kumral A, Ozer E, Yılmaz O, Akhisaroglu M, Gokmen N, Duman N, et al. Neuroprotective effect of erythropoietin on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate* 2003;83:224-8.
- Tsubone T, Moran SL, Amadio PC, Zhao C, An KN. Expression of growth factors in canine flexor tendon after laceration in vivo. *Ann Plast Surg* 2004;53:393-7.
- Paletta GA, Arnoczky SP, Warren RF. The repair of osteochondral defects using an exogenous fibrin clot. An experimental study in dogs. *Am J Sports Med* 1992;20:725-31.
- Shortkroff S, Barone L, Hsu HP, Wrenn C, Gagne T, Chi T, et al. Healing of chondral and osteochondral defects in a canine model: the role of cultured chondrocytes in regeneration of articular cartilage. *Biomaterials* 1996;17:147-54.
- Cook SD, Patron LP, Salkeld SL, Rueger DC. Repair of articular cartilage defects with osteogenic protein-1 (BMP-7) in dogs. *J Bone Joint Surg [Am]* 2003;85 Suppl 3:116-23.
- Abe T, Yamada H, Nakajima H, Kikuchi T, Takaishi H, Tadakuma T, et al. Repair of full-thickness cartilage defects using liposomal transforming growth factor-beta1. *J Orthop Sci* 2003;8:92-101.
- Seyedin SM, Thompson AY, Bentz H, Rosen DM, McPherson JM, Conti A, et al. Cartilage-inducing factor-A. Apparent identity to transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 1986;261:5693-5.
- Redini F, Daireaux M, Mauviel A, Galera P, Loyau G, Pujol JP. Characterization of proteoglycans synthesized by rabbit articular chondrocytes in response to transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Biochim Biophys Acta* 1991;1093:196-206.
- Glansbeek HL, van Beuningen HM, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Stimulation of articular cartilage repair in established arthritis by local administration of transforming growth factor-beta into murine knee joints. *Lab Invest* 1998;78:133-42.
- Henrotin YE, Sanchez C, Deberg MA, Piccardi N, Guillou GB, Msika P, et al. Avocado/soybean unsaponifiables increase aggrecan synthesis and reduce catabolic and proinflammatory mediator production by human osteoarthritic chondrocytes. *J Rheumatol* 2003;30:1825-34.