

Ratlarda Olu turulan Deneysel Diz Osteoartrit Modelinde ntraartiküler Glukozamin Sülfat Uygulamasının Kondroprotektif Etkisi

Zekeriya Okan KARADUMAN¹, stemi YÜCEL², Kazım SOLAK²

ÖZET

Bu alı mada deneysel olarak osteoartrit olu turulan ratlarda intraartiküler glukozaminsülfat uygulamasının kondroprotektif etkisinin de erlendirilmesi amaçlanmı tır. Çalı mada 2 grup olup, her grupta 15 olmak üzere toplam 30 rat kullanılmı tır. Ratların dizlerinde ön çapraz ba makroskopik olarak görülmü ve eksize edilmi tır. Cerrahi i lemden 2 hafta sonra her iki gruba da 1 hafta ara ile 3 kez intra artiküler enjeksiyon uygulanmı tır. 1. gruba (glukozamin sülfat grubu) 12mg/0.06cc glukozamin sülfat intraartiküler olarak uygulanmı tır. 2. gruba (kontrol grubu) intraartiküler 50µl/0.05cc %0.9 luk NaCl(Sodyum klorid) uygulanmı tır. Cerrahi sonrası 8. hafta ratlar sakrifiye edilmi tir ve elde edilen preparatlar histopatolojik olarak de erlendirilmi tir. Sonuç olarak osteoartritli ratlarda Glukozamin sülfat uygulamasının kontrol grubuna kıyasla rejenerasyon dokusundaki histopatolojik etkilerinin istatistiksel açıdan anlamlı oldu u ortaya konmu tur. Glukozamin sülfatın intraartiküler uygulaması osteoartritli dizlerde uygulanabilecek alternatif bir tedavi yöntemi olarak de erlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Glukozamin sülfat; rat; osteoartrit.

Condroprotective Effect of Intraarticular Glucosamine Sulfate Application on The Model of Experimental Knee Osteoarthritis Created on Rats

ABSTRACT

The aim of this study is to examine the chondroprotective efficacies of intraarticular glucosamine-sulfate administrations in an experimental osteoarthritis model in rats. There are 2 groups in this study. 15 rats for each group (total 30) were used in this study. The knee joints of the rats were seen macroscopically and the anterior cruciate ligaments (acl) were resected. Two weeks after the surgery, three injections were administered intra-articularly once two weeks. 12mg/0.06 cc glucosamine-sulfate was injected to the intraarticular cavity to the rats in group 1 (glucosamine-sulphate group). 50 µl/0.05 cc 0.9% NaCl solution was injected to the intraarticular cavity to the rats in group 2 (control group). The rats were sacrificed eight weeks later and the preparations were evaluated histopathologically. In the osteoarthritic rat knee joints, the histopathological effects of tissue regeneration of glucosamine sulfate and HA applications compared to the control group were shown to be statistically significant. Glucosamine sulphate administration can be accepted as an alternative treatment protocol in the treatment of osteoarthritis in the knee joint.

Keywords: Glucosamine sulphate; rats; osteoarthritis.

G R

Osteoartrit (OA) en sık görülen artrit formu olup prevalansı ya la birlikte artı göstermektedir. Vücutta birçok eklemi etkileyebilmesine ra men yük ta ıyan eklemlerin OA'sı daha fazla özürüllü üne neden olmaktadır. Özellikle de OA'ya ba lı diz a rısının, ya lıardaki en sık görülen fiziksel yetersizlik nedeni oldu u belirlenmi tir (1,2).

Osteoartrit için günümüzde uygulanan bir çok tedavi seene i mevcuttur. OA'in ideal tedavisini altında mekanizmayı anlayıp eklem yıkımını ve hastalı ın ilerlemesini önlemektir (3). Ancak uygulanan tedavi yöntemlerinden hiçbirisi hastalı ı tamamen ortadan kaldırmak için yeterli olmamaktadır. Tedavide kullanılan ba lıca yöntemler arasında basit analjezikler ve non-steroid antiinflatuar ilaçlardan olu an medikal tedaviler, egzersizler, fizik tedavi yöntemleri, steroid ve hyalüronik asit gibi intraartiküler ajanlar, yardımcı cihazlar, hasta e itimi, glukozamin-kondroitin sülfat preparatları ve

¹ Düzce Atatürk Devlet Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

² Düzce Üniversitesi E itim ve Ara tırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Correspondence: Dr. Zekeriya Okan KARADUMAN e-posta: karadumano@hotmail.com

topikal kapsaisin gibi destekleyici yöntemler ve cerrahi tedavi yöntemleri sayılabilir (4). Eklem tamamlanmasıyla birlikte esas etkilenen yapı eklem kıkırdığıdır (5). Osteoartritli hastalarda, ana semptom olan diz ağrısının giderilmesinin yanında, osteoartrit gelişiminin durdurulması veya yavaşlatılması da büyük önem kazanmıştır (6).

Glukozamin türevleri OA'nin semptomlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanımı oral veya intramusküler yoldandır. Oral glukozamin sülfat barsaktan yaklaşık %70 emilir ve böbrek yoluyla vücuttan atılır (7,8). Glukozamin (2-amino-2-deoksialfa-D-glukoz) mukopolisakkarit (9) ve kitinin gerekli bir bileşeni olan bir aminosakkarid olup, kondrositlerin sentezlediği proteoglikanların ve glukozaminoglikanların yapımında kullanılır (10-12). Kitin dünya üzerinde en bol bulunan ikinci polimerdir ve yengeç, istakoz, karides, istiridye kabuklarından elde edilmektedir. Aynı zamanda sentetik yollardan da elde edilebilir (13).

Glukozamin sülfat kollojenaz ve fosfolipaz A2 gibi kıkırdığına hasar verici enzimlerin etkinliğini, lizozomal enzimlerin aktivitesini ve süperoksit radikallerinin oluşumunu da azaltmaktadır. Diğer taraftan, glukozamin sülfat nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlardan (NSAİD) farklı olarak prostaglandin sentezini baskılamadığı için daha güvenli bir profile sahiptir (11,12,14).

ÇALIŞMANIN AMACI, YÖNTEMİ, GEREÇLERİ VE YÖNTEMİ

Bu çalışmada 220-275 gram ağırlıkta ve 5-7 aylık olacak şekilde 30 adet erişkin erkek Wistar Albino cinsi rat kullanılmıştır. Deney süresince ratlar her kafeste 3-4 rat olacak şekilde barındırılmış, standart laboratuvar besinleri ile beslenmiş, sıvı ve besin kısıtlaması yapılmamıştır. Ratlar 15'erli 2 gruba ayrılmıştır. 1. grup glukozamin sülfat grubu,

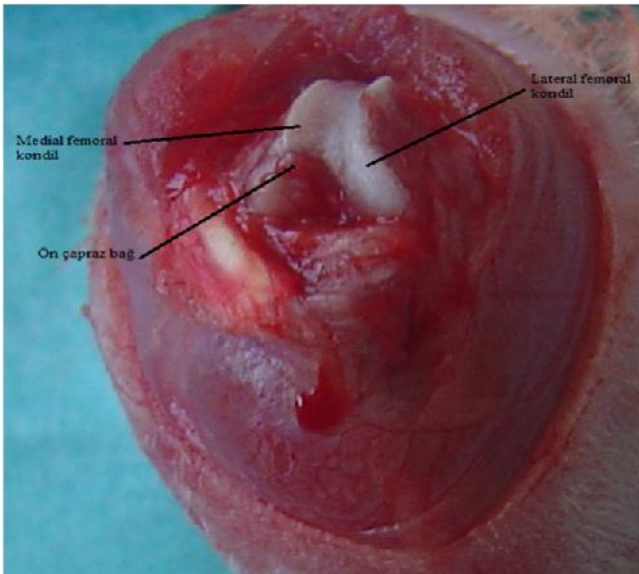
2. grup kontrol grubu olarak belirlenmiştir.

Ratların dizlerine patella üst polinden bir çizgiyle tibiyaya kadar longitudinal insizyon yapılmış, daha sonra medial parapatellar ile artrotomi yapılmış, patella laterale devrilerek, ön çapraz bağ makroskopik olarak görülmüş ve deneysel osteoartrit modeli oluşturulmak amacıyla eksize edilmiştir (Resim 1). Eksizyon sonrası ön çekme testi yapılarak incelenmiştir. İşlemler sonrası eklem steril izotonik solüsyon ile yıkanmış ve insizyonları usulüne uygun olarak kapatılmıştır. Cerrahi tedavi sonrasında ratların dizlerine herhangi bir tespit uygulanmamıştır ve serbest dolaşmalarına izin verilmiştir. Cerrahi işlemden 2 hafta sonra başlanarak her gruba 1 hafta ara ile 3 kez intraartiküler enjeksiyon uygulanmıştır: 1. gruba (glukozamin sülfat grubu) 12mg/0.06cc glukozamin sülfat (Dona ampul®, Abdi Brahim) insülin enjektörü ile intraartiküler uygulanmıştır. 2. gruba (kontrol grubu) ise 50µl/0.05cc %0.9 luk NaCl (sodyum klorid) uygulanmıştır.

Cerrahi işlemden sonra 8 hafta, enjeksiyon işleminden 4 hafta sonra ratlar yüksek doz ketamin (Ketalar®, Pfizer) verilerek sakrifiye edilmiş ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Ratların sağ alt ekstremitelerine artrotomi yapılmıştır. Femur distali ve tüberositas tibia kısmından itibaren osteotomi yapılarak alınmıştır (Resim 2).

Histopatolojik Değerlendirme

Örnekler randomize numaralandırılarak patolojiye gönderildi. Materyaller 1 hafta süreyle %10'luk formaldehitte fiksasyon yapıldı. Fiksasyonu takiben 5 gün süre ile (Shanden TBD-2) dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işlemi sonrasında patolojiye gönderilen doku medial kondilin yapılarına yerinden eklem aralıklarına dik olacak şekilde ikiye bölündü ve kasetlendi. Örnekler hangi gruba ait olduğu bilinmeden laboratuvara gönderilen numaraya



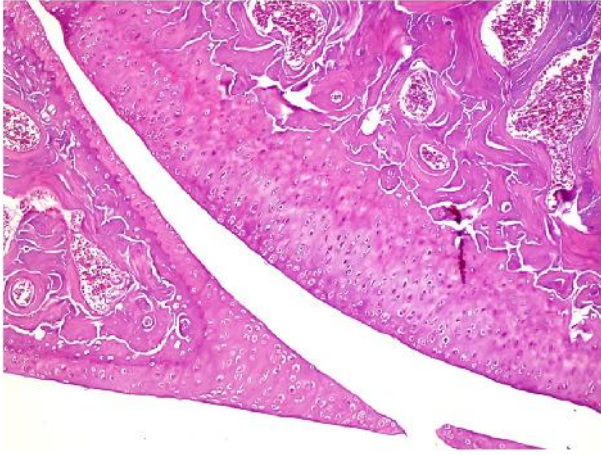
Resim 1. Ön çapraz bağları kesilmiş rat diz eklemi

Tablo 1. Mankin skoru (15)

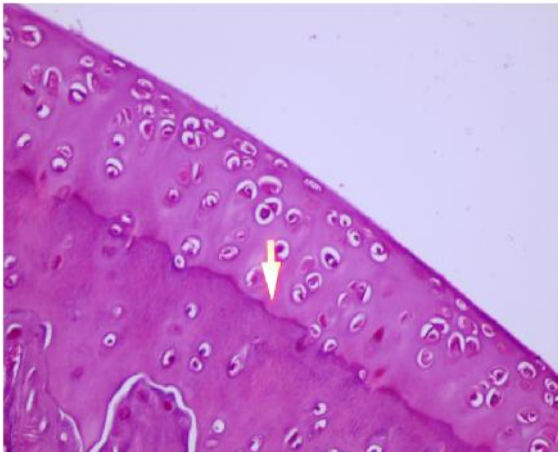
1. Kıkırdak yapısı	
Normal	0
Yüzey düzensizlikleri, radial tabakaya kadar fissür gelişimi	1
Pannus	2
Yüzeyel kartilaj tabakası kaybı	3
Hafif organizasyon kaybı, hücre kolonlarının yokluğu, seyrek hücre kümeleri	4
Kalsifiye kartilaj tabakasına kadar fissür oluşumu	5
Tam organizasyon kaybı, hücre kümeleri, osteoklast aktivitesi	6
2. Hücresel anormallik	
Normal	0
Hipersellülarite, küçük yüzeyel hücre kümeleri dahil	1
Hücre kümeleri	2
Hiposellülarite	3
3. Matris boyanması (Safranin O)	
Normal/hafif azalma	0
Radial tabakada boyanma azalması	1
İnterteritorial matris boyanma azalması	2
Sadece perisellüler matris boyanma	3
Boyanma yok	4
4. Tidemark devamlılığı	
İntakt	0
Destruksiyon	1



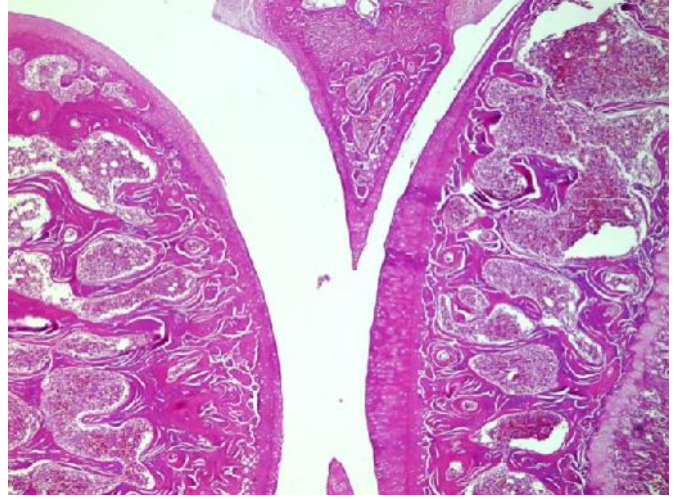
Resim 2. Cerrahiden sekiz hafta sonra glukozamin sülfat grubundan elde edilen piyesin makroskobik görüntüsü



Resim 3. Normal hyalin kıkırdak, sa lam diz (H&E, x100 büyütme)



Resim 4. Glukozamin sülfat grubunda tidemark intakt (H&E, x200 büyütme)



Resim 5. Glukozamin sülfat grubunda normal hyalin kıkırdak (H&E, x100 büyütme)

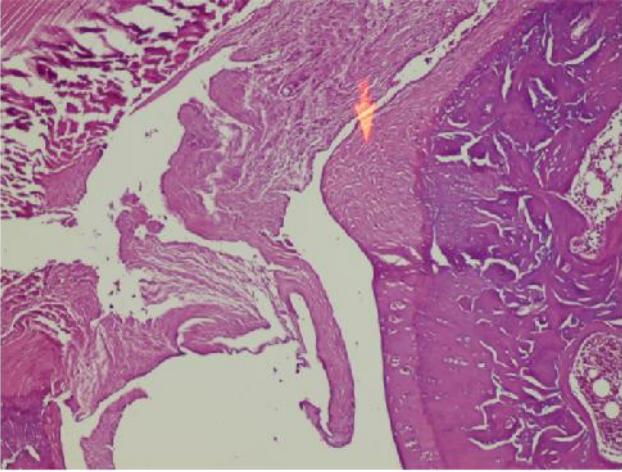
göre etiketlendi. Bu örnekler asitten arındırılmak üzere akarsuda 3 saat yıkandı. Daha sonra otomatik doku takip cihazında (Shanden exelsior ES) 13 saat süre ile takip i lemi yapıldı. Bu i lemde dokulara sırasıyla (2 kez 30'ar dakika formaldehit, 6 kez 60'ar dakika alkol, 3 kez 60 dakika xylen, bir kez 60 dakika ve iki kez 80 dakika parafin) uygulandı. Takip i leminden sonra parafine gömülen dokulardan 2 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hematoksilen&Eosin (H&E) ve safranin-O ile boyama yapıldı. Her örnek patolojiye numaralandırılarak gönderildi i ve örne in hangi gruba dahil oldu unu bilinmedi i için patolo un kör de erlendirme yapması sa landı. Kesitler ık mikroskopu altında de erlendirildi (Olympus Bx-50, Olympus Optical). Görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı. Doku örnekleri temel olarak tamir dokusunun kıkırdak yapısı, hücresel yapılanması, matriksin safranin-o ile boyanması ve eklem yüzeyinin düzgünlü ü açısından incelendi. Bulgular Mankin Skalasına göre de erlendirildi (Tablo 1) (15). Tüm kesitler, birbirinden ba ımsız en az iki ara tırmacı tarafından de erlendirilerek bunlardan elde edilen skorların ortalamaları esas alındı.

statistiksel Analiz

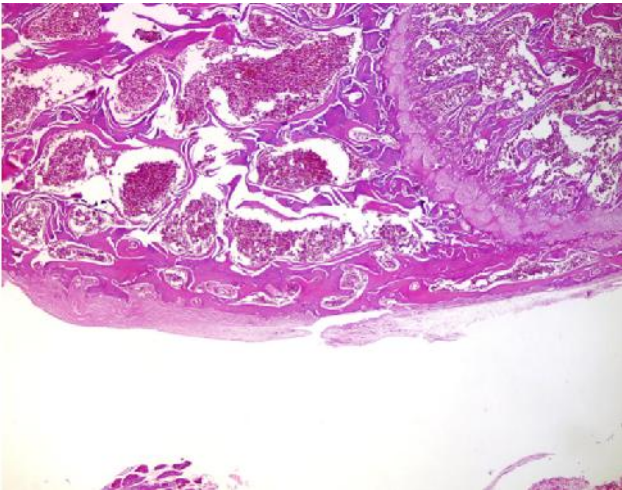
Grupların histolojik de erlendirme verileri kaydedilip, istatistiksel analizler SPSS 11.0 (SPSS, Chicago, Illinois) kullanılarak yapılmı tir. Sürekli nitelikteki de i kenlerin da ılımı, One-sample Kolmogorov-Smirnov testi ile de erlendirilmi tir. İgili de i kenlerin da ılımı normal olmadı ı için gruplar arası kar ıla tırmalarda Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney-U testi kullanılmı tir. 0.05'ten küçük P de eri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmi tir.

BULGULAR

Çalı mada 2 grup olmak üzere, her grupta 15 rat olacak ekilde toplam 30 rat kullanıldı. Glukozamin sülfat grubundan 1 rat ve kontrol grubundan 4 rat deney a masında öldü ü için, kontrol grubundan 3 rat ise bariz enfeksiyon bulguları görüldü ü için çalı madan çıkarılmı tir. Toplam 22 preparat (Glukozamin sülfat grubundan 14 rat, kontrol grubundan 8 rat) histopatolojik inceleme için hazırlandı. Histopatolojik inceleme Mankin Skalasına göre yapıldı.



Resim 6. Kontrol grubunda organizasyon kaybı (H&E, x100 büyütme)



Resim 7. Kontrol grubunda tidemark destrüksiyonu (H&E, x100 büyütme)

Hazırlanan preparatlar kıkırdak yapısı, hücrel anormallik, matriks boyanması ve tidemark devamlılı ı açısından incelendi (Tablo 1) (15). Histopatolojik incelemeler sırasında preparatların foto rafları çekildi (Resim 3-7).

Tablo 2’de grupların histolojik incelemelerinin Mankin Sınıflamasına göre ortalama sonuçları verilmi tir.

Grupların histolojik incelemelerinin Mankin Sınıflamasına göre minimum ve maksimum de erleri Tablo 3’te gösterilmi tir.

TARTI MA

Bu çalı mada deneysel osteoartrit modelinde glukozamin sülfat uygulamasının intraartiküler uygulamasının kondroprotektif etkinli i ara tırlı mı tir. Sonuçlar cerrahi sonrası 8.hafta sonunda de erlendirilmi tir. Glukozamin sülfat grubunun sonuçlarının kontrol grubuna göre daha iyi oldu u gösterilmi tir. Glukozamin sülfatın kontrol grubuna göre rakamsal olarak daha etkili oldu u belirlenmi tir.

Glukozamin sülfat grubu ile kontrol grubu arasında kıkırdak yapısı ve tidemark devamlılı ı açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık oldu u, hücrel anormallik ve matriks boyanması açısından ise ileri derecede anlamlı farklılık oldu u belirlenmi tir.

Eklemi etkileyen travmalar kondral hasar olu turabilir. Olu an bu kondral hasar eklemdede osteoartrit ile sonuçlanan dejeneratif süreci ba latır (3). Osteoartrit sürecini engellemeye veya yava latmaya ya da olu mu osteoartrit eklemi tedavi etmeye yönelik birçok konservatif ve cerrahi yakla ım günümüzde uygulanmaktadır (16). En ideal prosedür için ara tırmalar halen devam etmektedir. Son zamanlarda hastalı ı modifiye edici ajanlar üzerinde durulmaktadır. Son yıllarda glukozaminsülfat’ın intraartiküler uygulamasının etkinli ini ara tıran çalı maların yapıldı ı literatürde görülmektedir (3,15,17).

Literatürde Glukozamin sülfatın intraartiküler etkilerinin kar ıla tırlı dı ı çok az çalı ma bulunmaktadır (3,17).

Total Mankin Skalası açısından glukozamin sülfat grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan ileri derecede

Tablo 2. Grupların histolojik incelemelerinin Mankin Sınıflamasına göre ortalama sonuçları

	Kıkırdak Yapısı	Hücrel Anormallik	Matriks Boyanması	Tidemark Devamlılı ı	Total Mankin Skalası
Glukozamin sülfat grubu	1,71±1,44	0,36±0,50	0,36±0,63	0,21±0,43	2,64±2,56
Kontrol grubu	3,5±1,60	1,88±0,64	1,88±0,64	0,88±0,35	8,12±2,80

Tablo 3. Grupların histolojik incelemelerinin Mankin Sınıflamasına göre minimum ve maksimum de erleri

	Kıkırdak Yapısı	Hücrel Anormallik	Matriks Boyanması	Tidemark Devamlılı ı
Glukozamin grubu	0-5	0-1	0-2	0-1
Kontrol grubu	2-6	1-3	1-3	0-1

anlamli farklilik oldu u belirlenmi tir.

Scotto ve ark. (18), glukozamin'in insan kondrosit hücreleri üzerine etkilerini invitro olarak kondrosit hücre kültürlerinde incelemi lerdir. Kondrosit hücre kültürlerinde IL-1 uygulaması ile glukozamin uygulaması sonrasında IL-1 nin uygulanması arasındaki farklılıklar ara tırlımı tir. IL-1 uygulaması sonrasında MMP'ların gen ekspresyonunda belirgin artma oldu u, ancak IL-1 uygulaması öncesinde glukozamin uygulanan grupta MMP (Matriks metallo proteinaz) gen ekspresyonunun inhibe oldu u gösterilmi tir.

Rezende ve ark. (19), 20 rat üzerinde yaptıkları çalı mada oral glukozamin ile oral dianserin uygulamasını kar ıla tırmı lardır. Ara tırmacılar ratları iki gruba ayırıp her bir ratın sa dizine menisektomi uyguladı lar. Ratlara oral olarak 1. grupta 240 mg/kg/gün glukozamin, 2. grupta 50 mg/kg/gün dianserin verilmi tir. Üç ay sonra ratlar sakrifiye edilmi tir. Elde edilen piyesler histolojik olarak ve eklem hareket açıklı ı açısından de erlendirilmi tir. Her iki grup arasında histopatolojik açıdan benzer sonuçlar elde edildi i ancak eklem hareket açıklı ının dianserin grubunda daha az oldu u yazarlar tarafından bildirilmi tir.

Glukozamin sülfat'ın farklı tıbbi çalı malarda kullanımı ve bu çalı maların ço unda etkili oldu u yönünde sonuçlar bildirilmi tir. Oral glukozaminsülfat uygulaması ile ilgili literatürde pek çok çalı ma yer almasına ra men intraartiküler uygulaması ile ilgili sınırlı sayıda çalı ma bulunmaktadır (3,17). Çalı mamızda glukozaminsülfat'ın ratlarda deneysel osteoartrit modelinde histopatolojik olarak kontrol grubuna göre kondroprotektif açıdan olumlu etkilere sahip oldu u ortaya konulmu tur. Benzer çalı malarla desteklenmek kaydıyla glukozaminsülfat'ın intraartiküler uygulamasının osteoartritli hastalarda klinik kullanıma geçebilece i kanaatindeyiz.

SONUÇ

Sonuç olarak deneysel olarak olu turulmu osteoartritli ratlarda Glukozamin sülfat uygulamasının kontrol grubuna kıyasla kondroprotektif etkinli inin histopatolojik etkilerinin istatistiksel açıdan anlamlı oldu u ortaya konmu tur.

Eklemi ilgilendiren travmalar bütün eklem içi ve eklem dı ı yapıları etkilemektedir. Eklem içi yapıların, özellikle kıkırdak dokunun hasar görmesi eklemdede patolojik bir süreç ba latır ve a rklı disfonksiyonel bir eklem olu masına sebep olur. Kıkırdak hastalıkları tüm dünya da i kaybına sebep olan ve hasta konforunu olumsuz etkileyen önemli bir sosyoekonomik problemdir.

Osteoartritli hastalarda günümüzde artroskopik debridman, artroplasti gibi cerrahi yakla ım ve HA, glikozaminoglikan, kondroitin gibi kondroprotektif ajanlar kullanılmaktadır. Bütün uygulamaların ortak amacı, kıkırdak dokuyu travma sonrasında dejeneratif artrite götüren patolojik süreci engellemek, eklemi artrozdan kurtarmak ve hasar gören kondral alanlarda hyalin kıkırdak a benzer ve hyalin kıkırdak ın fonksiyonlarını yerine getirebilme kabiliyetine sahip rejenerasyon dokusunu olu turmaktır. Bu aray ı travmaya maruz kalmı kıkırdak doku onarımında olumlu etkili i olan ya da olabilece i dü ünülen moleküllerle

ilgili ara tırmaların yo unla masına neden olmu tur.

Bu çalı mada ratlar üzerinde deneysel olarak osteoartrit olu turularak intraartiküler Glukozaminsülfatın etkili i ara tırlımı tir. Kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde kıkırdak iyile mesini olumlu etkiledi i belirlenmi tir. Glukozamin sülfatın intraartiküler kullanımının diz eklem yaralanmalarında ve osteoartritte uygulanan etkili bir tedavi metodu haline gelebilece i kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Altman RD, Lozada CJ. Clinical features of osteoarthritis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, editors. Rheumatology. 4th ed. Spain: Mosby Elsevier; 2008. p.1703-10.
2. Peat G, McCarney R, Croft P. Knee pain and osteoarthritis in older adults: a review of community burden and current use of primary health care. Ann Rheum Dis. 2001; 60:91-7.
3. Özkan ÜF, Özkan K, Ramadan S, Güven Z. Chondroprotective effect of N-acetylglucosamine and hyaluronate in early stages of osteoarthritis an experimental study in rabbits. Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases. 2009; 67(4):352-7.
4. Dıraço lu D. Osteoartritte intraartiküler hyalüronik asit tedavisi. Türk fiz tıp rehabilitasyon dergisi. 2007; 53:154-9.
5. Doral MN, Dönmez G, Atay ÖA, Bozkurt M, Leblebicio lu G, Üzümcügil A ve ark. Dejeneratif Eklem Hastalıkları. Totbid Dergisi. 2007; 6:1-2.
6. en C, Güne T, Saygı B, Erdem M. Eklem içine uygulanan hyalüronik asidin erken evreli osteoartritte kıkırdak koruyucu etkisi: Tav anda deneysel çalı ma. Acta Orthop Traumatol Turc. 2004; 38(5):348-352.
7. Martin CW. Glucosamine: Review of its effectiveness in treating knee osteoarthritis. Workspace BC; January 2004.
8. Glucosamine Sulfate. Alternative Medicine Review. Monograph. 1994; 4(3):193-5.
9. Horton D, Wander JD. The carbohydrates. Vol IB. New York: Academic Press. 1980.
10. Brief AA, Maurer SG, Di Cesare PE. Use of glucosamine and chondroitin sulfate in the management of osteoarthritis. J Am Acad Orthop Surg. 2001; 9:71-8.
11. Kazakçio lu M. Osteoartrit ve glukozamin. Turk J Rheumatol. 2009; 24:94-7.
12. Beaumont GH, Rovari LC. Use of crystalline glucosamine sulfate in osteoarthritis. Future rheumatol. 2006; 397-414.
13. Chen-ti W, Jinn L, Chee-jen C, Yu-tsan L, Sheng-mou H. Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. J Bone Joint Surg Am. 2004; 86:538-45.
14. Gouze JN, Gouze E, Popp MP, Bush ML, Dacanay EA, Kay JD, et al. Exogenous glucosamine globally protects chondrocytes from the arthritogenic effects of IL-1 . Arthritis Research & Therapy. 2006; 8:R173.
15. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. J Bone Joint Surg. 1971; 53:523-7.
16. Murat N, Karadam B, Özkal S, Karatosun V, Gidener S. Sıçanlarda papainle olu turulan osteoartritin Mankin skoru ile zaman ba lı derecelendirilmesi. Acta Orthop Traumatol Turc. 2007; 41(3):233-7.
17. Shikhman AR, Amiel D, D'Lima D, Hwang SB, Hu C, Xu A,

- et al. Chondroprotective activity of N-acetylglucosamine in rabbits with experimental osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64(1):89-94.
18. Scotto d'Abusco A, Calamia V, Cicione C, Grigolo B, Politi L, Scandurra R. Glucosamine affects intracellular signalling through inhibition of mitogen-activated protein kinase phosphorylation in human chondrocytes. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9(5):R104.
19. Rezende MU, Gurgel HM, Vilaça Junior PR, Kuroba RK, Lopes ASS, Phillipi RZ, et al. Diacerein versus glucosamine in a rat model of osteoarthritis. *Clinics.* 2006; 61(5):461-6.