



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ
OSTEOARTRİT MODELİNDE ORAL K2 VİTAMİNİ
KULLANIMININ DİZ OSTEOARTRİT PROGRESYONU
ÜZERİNE ETKİSİ**

EMRE UZUN

UZMANLIK TEZİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. İBRAHİM TEKEOĞLU

2023 - SAKARYA

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ
OSTEOARTRİT MODELİNDE ORAL K2 VİTAMİNİ
KULLANIMININ DİZ OSTEOARTRİT PROGRESYONU
ÜZERİNE ETKİSİ**

EMRE UZUN
UZMANLIK TEZİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. İBRAHİM TEKEOĞLU

2023-SAKARYA

ONAY

Kurum : Sakarya Üniversitesi/Tıp Fakültesi

Program türü : Uzmanlık Tezi

Anabilim Dalı : Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon

Tez Sahibi : Emre UZUN

Sınav Tarihi : **Saat:**

Tez Başlığı : Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulmuş Osteoartrit Modelinde Oral K2 Vitamini Kullanımının Diz Osteoartrit Progresyonu Üzerine Etkisi

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Uzmanlık Tezi olarak Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza	Kabul/Red*
Danışman (Üye)			
Üye			
Üye			

* Red kararının gerekçesi onay sayfasının arkasında belirtilmelidir.

ONAY

“Bu tez ../../202.. tarihinde yukarıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

../../202..

Tıp Fakültesi Dekanı

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 12/01/2022 tarihinde 06 sayılı kararı ile onay alarak hazırlanmıştır.

Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından 2022-7-25-9 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Tarih:

.../.../.....

Emre UZUN

İmza

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon uzmanlık eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım tez danışmanı hocam saygıdeğer Prof. Dr. İbrahim TEKEOĞLU'na, asistanlığımın ilk gününden beri yolumu aydınlatan değerli hocalarım Prof. Dr. Ayhan KAMANLI ve Prof. Dr. Kemal NAS'a, çalışmanın histopatolojik incelemesini yapan Prof. Dr. Elvan ŞAHİN ve Doç. Dr. Özcan BUDAK'a, ratların bakımı ile ilgili desteklerini esirgemeyen kıymetli büyüğüm Veteriner Hekim Dr. Hüseyin ÇAKIROĞLU'na hayatımın her anında maddi ve manevi anlamda her koşulda yanımda olan annem Nurhan UZUN ve abim Osman UZUN'a, desteğini her zaman hissettiğim ve yakın zamanda kaybettiğim rahmetli babam Mustafa UZUN'a, ömür boyu yol arkadaşım sevgili eşim Esma UZUN'a, kliniğimizin uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personellerine teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla.

Dr. Emre UZUN

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA ve SİMGELER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Osteoartrit.....	4
2.1.1. Osteoartrit tanımı ve epidemiyolojisi.....	4
2.1.2. Osteoartrit etyolojisi ve risk faktörleri	5
2.1.3. Osteoartrit sınıflandırması	7
2.1.4. Osteoartrit patogenezi	8
2.1.5. Diz osteoartritinde gözlenen klinik bulgular ve fizik muayene bulguları	12
2.1.6. Diz osteoartrit tanısı	13
2.1.7. Diz osteoartrit tedavisi.....	15
2.1. Osteoartritte Hayvan Deney Modelleri.....	19
2.2.1. Primer osteoartrit modelleri.....	20
2.2.1.1. Doğal olarak oluşan primer osteoartrit modelleri.....	20
2.2.1.2. Genetiği değiştirilmiş hayvanlarda oluşan primer osteoartrit modelleri	20
2.2.2. Sekonder osteoartrit modelleri.....	21

2.2.2.1. İnvaziv sekonder osteoartrit modelleri	21
2.2.2.1.1. Cerrahi olarak indüklenen osteoartrit modelleri	21
2.2.2.1.2. Kimyasal olarak indüklenen osteoartrit modelleri	22
2.2.2.2. Non - invaziv sekonder osteoartrit modelleri	23
2.3. K Vitamini Çeşitleri.....	23
2.3.1. K2 vitamini sentezi ve metabolizması	24
2.3.2. K2 vitamini kaynakları.....	26
2.3.3. K2 vitamini fonksiyonları ve etki mekanizması	27
2.3.4. K2 vitamini ile ilişkili hastalıklar	30
2.3.4.1. K2 vitamini ve osteoporoz	30
2.3.4.2. K2 vitamini ve kardiyovasküler hastalıklar	32
2.3.4.3. K2 vitamini ve malignite.....	32
2.3.4.4. K2 vitamini ve periferik nöropati	33
2.3.4.5. K2 vitamini ve diğer ilişkili hastalıklar	33
2.3.5. K2 vitamininin osteoartrit ile ilişkisi.....	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. Çalışma Dizaynı İçin Etik Kurul Onayı Alınması.....	35
3.2. Çalışmanın Yürütülmesi İçin Finansal Desteğin Sağlanması	35
3.3. Çalışmaya Alınacak Hayvan Sayısının Belirlenmesi	35
3.4. Ratların Seçimi ve Gruplara Ayrılması	36
3.5. Rat Osteoartrit Modeli Oluşturulması	36
3.6. Ratların Bakımı ve Diyet Programı	37
3.7. Tedavi Grubuna Verilecek K2 Vitamin Dozunun Belirlenmesi	38
3.8. Ratların Sakrifikasyonu ve Sağ Diz Eklemlerinin Alınması	39
3.9. Histolojik Boyama Yöntemleri	39
3.10. İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemleri	40

3.11. Histopatolojik Verilerin Skorlanması	41
3.12. İmmunhistokimyasal Boyanma Verilerinin Değerlendirilmesi	42
3.13. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Ratların İşlem Öncesi ve İşlem Sonrası Ağırlıklarının Analizi	44
4.2. Diz Eklemlerinin Histopatolojik Verilerinin ve Mankin Skorunun Analizi	45
4.3. Diz Eklemlerinin İmmunhistokimyasal Olarak MMP - 13 ve Tip II Kollajen Alfa - 1 Antikoru ile Boyama Sonuçlarının Analizi	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	57
6. KAYNAKÇA	66
7. EKLER	93
7.1. EK-1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Onay Belgesi.....	93
7.2. EK-2: Hayvan Deneyleri Kullanım Sertifikası	94
ÖZGEÇMİŞ.....	95

KISALTMA ve SİMGELER

ACE: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim

ACR: American College of Rheumatology

ADAMTS: Trombospondin motifli bir disintegrin ve metalloproteinaz

ALP: Alkalen Fosfataz

Anti – NGF: Anti – sinir büyüme faktörü

ATP: Adenozin Trifosfat

COX – 2: Siklooksijenaz - 2

DİSH: Diffüz İdiopatik İskelet Hiperosteozi

DM: Diabetes Mellitus

DMOAD: Osteoartritte hastalığı modifiye edici ajanlar

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

G: Gauge

Gas6: Growth Arrest Spesifik 6

Gla: Gama-karboksiglutamat

GRP: Gla açısından zengin protein

HCC: Hepatoselüler karsinom

IL: İnterlökin

IL – 1Ra: IL -1 reseptör antagonisti

IL – 1RI: IL - 1 reseptör I

KMY: Kemik Mineral Yoğunluğu

MGP: Matriks Gla Protein

MIA: Monosodyum Iodoasetat

MK: Menakinon

MMP: Matriks metalloproteinazlar

NF - KB: Nükleer Faktör Kappa Beta

NO: Nitrik oksit

NSAİİ: Non - steroid anti inflamatuar ilaç

OA: Osteoartrit

OARSI: Osteoarthritis Research Society International

OC: Osteokalsin

OPG: Osteoprotegerin

OPN: Osteopontin

PBS: Fosfat tamponlu salin

PG – E2: Prostaglandin E2

PRP: Platelet Rich Plasma

RANK: RANKL reseptörü

RANKL: Nükleer Faktör Kappa Beta Ligandı

RDI: günlük alım dozu

Runx2: Runt ilişkili transkripsiyon faktörü

SD: Sprague Dawley

SÜDETAM: T. C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi

SXR: Steroid ve ksenobiyotik reseptör

TG – C: Doku Geni - C

TGF – β : Dönüştürücü büyüme faktörü - β

TNF: Tümör Nekroz Faktör

TNFR 1: Tümör Nekroz Faktör Reseptör 1

TNFR 2: Tümör Nekroz Faktör Reseptör 2

TSK: Tsukushi

VKDP: Vitamin K bağımlı proteinler

VKİ: Vücut kütle indeksi

Wnt: Wingless - related integration site

 g: Mikrogram

 l: Mikrolitre

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. K vitamini çeşitleri (Revize edilmiştir) (Jadhav ve ark., 2022).....	24
Şekil 2.2. Vitamin K2'nin osteoblast aktivasyonu yoluyla OPG sentezini artırması ve aktif osteoklast oluşumunun inhibisyonu	30
Şekil 4.1. Grupların işlem öncesi ve sonrası ağırlık ortalamalarının grafik olarak gösterimi.....	44
Şekil 4.2. Grupların ortalama Mankin skorlarının grafik olarak gösterimi	50
Şekil 4.3. Grupların Tip II kollajen alfa 1 antikoru ile boyanma verilerinin grafik olarak gösterimi.....	55
Şekil 4.4. Grupların MMP - 13 antikoru ile boyanma verilerinin grafik olarak gösterimi	56

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. OA'nın tutulan ekleme göre sınıflandırılması.....	7
Tablo 2.2. OA'nın spesifik özelliklere göre sınıflandırılması	8
Tablo 2.3. OA'nın etyolojiye göre sınıflandırılması.....	8
Tablo 2.4. ACR OA tanı kriterleri	13
Tablo 2.5. Kellgren – Lawrence evrelendirme sistemi	14
Tablo 2.6. DMOAD'dan çalışmaları devam eden ajanlar	18
Tablo 3.1. Ratların çalışma başlangıcı ve çalışma bitişindeki ağırlıkları.....	38
Tablo 3.2. Mankin skorlama sistemine göre kırıldak yapısının değerlendirilmesi ...	41
Tablo 3.3. Mankin sistemine göre hücresel anormalliklerin değerlendirilmesi	41
Tablo 3.4. Mankin sistemine göre matriks boyanmasının değerlendirilmesi.....	42
Tablo 3.5. Mankin sistemine göre tidemark devamlılığının değerlendirilmesi.....	42
Tablo 4.1. Grupların işlem öncesi ve sonrası ağırlıklarının analizi	44
Tablo 4.2. Grupların Mankin skorları	49
Tablo 4.3. Grupların ortalama Mankin skoru verilerinin analizi	50
Tablo 4.4. Grupların immunhistokimyasal boyama sonuçlarına göre H – Score verileri	54
Tablo 4.5. Grupların H – Score verilerine göre immunhistokimyasal verilerinin analizi	55

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Ratların sağ diz femorotibial eklemine patellar tendon medialinden intraartiküler girişim uygulanması.....	37
Resim 4.1. Sham grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü.....	45
Resim 4.2. Kontrol (OA) grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü	46
Resim 4.3. Tedavi (OA + vitamin K2) grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü.....	47
Resim 4.4. Sham grubunun Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü.....	48
Resim 4.5. Kontrol (OA) grubunun Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü	48
Resim 4.6. Tedavi grubunun (OA + vitamin K2) Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü.....	49
Resim 4.7. Sham grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü	51
Resim 4.8. Kontrol (OA) grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü.....	51
Resim 4.9. Tedavi (OA + Vitamin K2) grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü	52
Resim 4.10. Sham grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa – 1 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü.....	53
Resim 4.11. Kontrol (OA) grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa - 1 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü	53
Resim 4.12. Tedavi (OA + Vitamin K2) grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa - 1 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü.....	54

ÖZET

GİRİŞ ve AMAÇ: K vitamini, yağda çözünen bir grup vitamine verilen isimdir. Literatürde K vitamini eksikliği ile osteoartrit oluşumu üzerine birçok çalışma yürütülmüştür. Fakat osteoartrit üzerine olan etkinin hangi K vitamini çeşidi üzerinden olduğu henüz açıklığa kavuşmamıştır. Çalışmamızda bu etkinin K2 vitamini ile ilişkili olabileceği öngörülerek diz osteoartrit progresyonuna etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: 24 adet Sprague Dawley cinsi erkek ratlar çalışmaya alındı. Ratlar sham grubu, kontrol (osteoartrit) grubu ve tedavi grubu olarak 3 eşit gruba ayrıldı. Sham grubunun sağ dizine steril salin, kontrol ve tedavi grubunun sağ dizine osteoartrit modeli oluşturmak için Monosodyum Iodoasetat (MIA) molekülü intraartiküler uygulandı. Standart diyetek ek olarak tedavi grubundakilere 8 mikrogram (μg) / gün K2 vitamini oral olarak verildi. 28 gün takip sonucunda ratlar sakrifiye edildi. Uygun metodlarla alınan sağ diz eklem kıkırdığı histolojik olarak Hematoksilen - Eozin ve Safranin O ile, immunhistokimyasal olarak tip II kollajen alfa 1 ve Matriks Metalloproteinaz - 13 (MMP – 13) ile incelendi. Histolojik skorlama sistemi olarak Mankin, immunhistokimyasal verilerin değerlendirilmesi için H - Score skorlama sistemi kullanıldı.

BULGULAR: Histolojik incelemeler sonucunda, tedavi grubunda kontrol grubuna göre kıkırdığın daha düzenli olduğu ve kıkırdak kalınlığının daha fazla olduğu ve sinovyal doku artıklarının bulunmadığı gözlenmiştir. Mankin skoru verileri sonucunda tedavi grubunda ($4,25 \pm 0,83$), kontrol grubuna ($11,10 \pm 0,83$) göre anlamlı düzeyde düşük sonuçlar saptanmıştır. İmmunhistokimyasal incelemeler sonucunda tedavi grubunda kontrol grubuna göre daha yoğun tip II kollajen boyanması, daha az MMP – 13 boyanması gözlenmiştir. H – Score verilerine göre tip II kollajen düzeyi tedavi grubunda ($35,00 \pm 7,60$), kontrol grubuna göre ($6,30 \pm 2,31$) anlamlı miktarda yüksek bulunurken, MMP – 13 düzeyi ise tedavi grubunda ($28,80 \pm 8,30$), kontrol grubuna göre ($71,30 \pm 2,31$) düşük saptanmıştır.

SONUÇ: Ratlarda MIA ile oluşan OA modelinde oral K2 vitamini kullanımı ile OA progresyonunun yavaşlatılabileceği saptanmıştır. Bu çalışma K2 vitaminin OA progresyonu üzerinde etkinliğinin yapıldığı ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: K2 vitamini, osteoartrit, rat.

ABSTRACT

Effect of oral vitamin K2 use on knee osteoarthritis progression in an experimentally created osteoarthritis model in rats

AIM: Vitamin K is the name given to a group of fat - soluble vitamins. In the literature, many studies have been conducted on vitamin K deficiency and osteoarthritis. However, it has not yet been clarified through which vitamin K type the effect on osteoarthritis is mediated. In our study, we hypothesized that this effect may be related to vitamin K2 and aimed to examine its effect on knee osteoarthritis progression.

MATERIALS AND METHODS: 24 male Sprague Dawley rats were included in the study. The rats were divided into 3 equal groups: sham group, control (osteoarthritis) group, and treatment group. Sterile saline was applied intraarticularly to the right knee of the sham group and Monosodium Iodoacetate (MIA) molecule was applied intraarticularly to the right knee of the control and treatment groups to create an osteoarthritis model. In addition to the standard diet, 8 micrograms (μg) / day of vitamin K2 was given orally to the rats in the treatment group. After 28 days of follow-up, the rats were sacrificed. Right knee articular cartilage was examined histologically with Hematoxylin - Eosin and Safranin O and immunohistochemically with type II collagen alpha 1 and Matrix Metalloproteinase - 13 (MMP - 13). Mankin was used as a histologic scoring system and H - Score scoring system was used for the evaluation of immunohistochemical data.

RESULTS: Histologic examinations showed that the cartilage was more regular and the cartilage thickness was higher in the treatment group than in the control group and there were no synovial tissue remnants. Mankin score data showed significantly lower results in the treatment group (4.25 ± 0.83) compared to the control group (11.10 ± 0.83). Immunohistochemical examinations revealed more intense type II collagen staining and less MMP-13 staining in the treatment group compared to the control group. According to H-Score data, type II collagen level was significantly higher in the treatment group (35.00 ± 7.60) compared to the control group (6.30 ± 2.31), while MMP-13 level was significantly lower in the treatment group (28.80 ± 8.30) compared to the control group (71.30 ± 2.31).

CONCLUSION: It was found that OA progression could be slowed down by oral vitamin K2 administration in the OA model induced by MIA in rats. This is the first study in which vitamin K2 was found to be effective on OA progression.

Keywords: Vitamin K2, osteoarthritis, rat.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Osteoartrit (OA); mekanik, biyokimyasal ve birtakım kalıtsal faktörlerin etkisi ile özellikle ağırlık taşıyan eklemlerde ilerleyici kıkırdak yıkımı, yeni kemik oluşumu, subkondral skleroz ve eklem yapılarında kombine biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerle karakterize dejeneratif bir hastalıktır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda 65 yaş üzerindeki kişilerin % 10 - 30'unda semptomatik diz OA'sı görüldüğü bildirilmiştir (Hedbom ve Häuselmann, 2002). Diz, OA'da semptomatik olarak en sık tutulan eklemdir (Uysal ve Basaran, 2009).

OA sadece eklem kartilajını değil aynı zamanda subkondral kemik, ligamentler, kapsül, sinovyum ve çevre kas dokularını da etkilemektedir (Bilge ve ark., 2018). Bu etkilenme eklemde daha çok yük binen yerlerinde görülmekte olup, diz eklem kıkırdığında medial tarafta değişiklik lateral tarafa göre daha çok gözlenmektedir. OA'da başlıca morfolojik değişiklikler artiküler kartilaj yüzeyinde düzensizleşme, incelme, yüzeyel çatlaklarda belirginleşme ve ülserleşme, sonuç olarak da altta yatan kemik dokunun açığa çıkması şeklindedir. Bu hasarlar önlenemezse marjinal osteofitler oluşur ve bunların üzerleri yeni oluşan, düzensiz yapıdaki hyalin kartilaj ve fibrokartilaj ile kaplanır (Sulzbacher, 2012).

K vitamini, yağda çözünen bir grup vitamine verilen isimdir. Son 30 yılda yapılan çalışmalarda K vitaminin kemik metabolizmasında kofaktör olduğu saptanmıştır (Nieves, 2005). Osteoblastik aktivite üzerine güçlü etkisinden dolayı özellikle osteoporozda tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Plaza ve Lamson, 2005).

K vitaminin 3 ana formu bulunmaktadır: K1, K2 ve K3. K1 vitamini daha çok koagülasyonla ilişkili olan klasik formudur (Schwalfenberg, 2017). K1 vitamini daha çok K vitaminin en bilinen etkisi olan pıhtılaşma faktörleri üzerine olan etkisinden sorumludur (Berenjian ve ark., 2015). K2 vitamini ile ilgili özellikle kemik sağlığı konusunda birçok araştırma yapılmıştır. Önemli bir kemik yapım markerı olan Osteokalsin (OC), K2 vitamini aracılığıyla karboksile olarak aktive olur. Bu sayede K2 vitamini osteoblastik aktiviteye katkıda bulunur. Kıkırdak ve kan damarı duvarında sentezlenen matriks Gla proteini (MGP) aracılığıyla yumuşak dokuda ve kan

damarlarında patolojik kalsifikasyon önlenmeye çalışılır. MGP'nin karboksile olarak aktiflenmesini sağlayan vitamin K2 vitamindir. (Flore ve ark., 2013). Ek olarak kollajenin çapraz bağlanmalarını düzenleyici etkisi vardır (Saito, 2009). K3 vitamini ise sentetik olarak kullanılan K vitamin formudur (Berenjian ve ark., 2015).

K vitamin eksikliğinin OA ile ilişkisi birçok çalışma ile gösterilmiştir. Subklinik K vitamin eksikliği olan hastaların, yeterli miktarda K vitamini alan hastalarla karşılaştırıldığı uzun dönem bir çalışmada diz OA ve kıkırdak lezyonlarının K vitamin eksikliği olan hastalarda arttığı gözlenmiştir (Misra ve ark., 2013). İleri yaş erkek hastalar üzerinde yapılan bir başka çalışmada serum K vitamini eksikliğinin dizde menisküs hasarı ve kıkırdak kaybı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Shea ve ark., 2015). OA'ya ait özelliklerden birisi olan kaba osteofit oluşumunun da K vitamin eksikliği ile korele olduğu gösterilmiştir (Neogi ve ark., 2006).

Günümüzde OA'nın kesin medikal tedavisi mümkün olmadığı halde ağrıyı azaltmak, eklem hareketliliğini arttırmak ve engelliliği azaltmak gibi yöntemlerle hastanın yaşam kalitesi iyileştirilebilir. OA tedavisinde ilk seçenek konservatif tedavilerdir. Kilo verme, sağlıklı beslenme, egzersiz ve yardımcı aletlerin (kama, baston, dizlik gibi) kullanımı tedavinin en temel kısmını oluşturmaktadır. Ağrının ve dejenerasyonun ilerlediği durumlarda medikal olarak topikal ve oral non - steroid antiinflatuar ilaç (NSAİİ), duloksetin, opioid analjezikler, glukozamin, kondroidin, kollajen destekleri kılavuzlarda önerilmektedir. Diğer yaklaşımlardan akupunktur, tai chi, balneoterapi, herbal remediler, transkütanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS) gibi fizik tedavi ajanları kullanılmaktadır. Geçmeyen vakalarda intraartiküler steroid ve hyaluronik asit gibi ajanlar da akla gelmektedir (Bannuru ve ark., 2019). Tüm bunlara yanıt alınamayan vakalarda son seçenek cerrahidir.

Bu tez çalışmasında K vitamininin OA üzerine yararlı etkisinin özellikle K2 vitamini üzerinden olduğu hipotezini kurarak oral K2 vitamini desteğinin antiosteoartritik etkisinin olup olmadığını gözlemlemeyi amaçladık. Bu hipotezin kaynağı, K vitaminin kemik metabolizması üzerine temel etkisinin K2 vitamini üzerinden olduğunun son yıllarda ortaya çıkmasından ileri gelmektedir. Bunu destekleyen bir başka çalışmada ileri evre OA hastalarında tedavi amacıyla yapılan total diz artroplastisi operasyonu ile çıkarılan kemik dokularında femur ve tibianın medial ve lateral kondillerindeki K2

vitamini düzeyleri kromatografi aracılığıyla incelenmiştir. Hem femurda hem tibiada medial tarafta K2 vitamini düzeyi lateral tarafa göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç klinik olarak da gözlemlenen OA sürecinin medial tarafta daha fazla olması bilgisiyle uyumaktadır (Ishii ve ark., 2013a). Çalışmamız sonucunda giderek sıklığı artan ve dizabiliteye yol açan OA'nın tedavisinde ve önlenmesinde umut verici, ucuz, yan etki profili güvenli ve düşük ilaç etkileşimine sahip yeni bir tedavi alternatifinin ortaya çıkması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Osteoartrit

2.1.1. Osteoartrit tanımı ve epidemiyolojisi

OA erişkin popülasyonda ağrı ve fonksiyon kayıplarına yol açan, günlük işlevleri olumsuz yönde etkileyen dejeneratif sürecin hâkim olduğu, Dünya’da en sık gözlenen kas-iskelet sistemi hastalığıdır (Pereira ve ark., 2015). Histopatolojik olarak kıkırdak dokunun progresif kaybı, özellikle kıkırdağa komşu subkondral kemik dokunun sklerozu ve çevre sinovyal yapılarda (Sulzbacher, 2012). İnsan ömrünün uzaması ile sıklığı artmakta ve giderek sağlık harcamalarında daha fazla yüke yol açmaktadır (Egloff ve ark., 2012). Semptomatik diz, el veya kalça OA prevalansının % 8,9 olarak saptandığı bir çalışmada, tüm bireylerin yaklaşık üçte birinde OA’ya ait radyolojik bulgunun olduğu belirtilmiştir (Felson ve ark., 1998). Literatürde genel OA prevalansı ise % 12 ile % 21 arasında değişmektedir (Palazzo ve ark., 2016).

OA’da diz, kalça, el parmakları, aksiyal iskelet, ayak parmakları sıklıkla tutulan bölgelerdir. En sık tutulum yeri ise diz eklemdir (Bannuru ve ark., 2015). Çin’de yapılan bir prevalans çalışmasında (toplamda 74.908 katılımcı) semptomatik diz OA prevalansı % 14,6 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada diz OA kadınlarda % 19,1 oranında saptanırken, erkeklerde % 10,9 olarak tespit edilmiştir (D. Li ve ark., 2020). Diz OA prevalansı hakkında farklı ülkelerde farklı sonuçlar göstermektedir. İsveç’te yapılan çalışmada diz OA prevalansı % 15,4 iken Kanada’da % 10,5, Amerika Birleşik Devletleri’nde % 19’un üzerinde olarak belirlenmiştir (Lawrence ve ark., 2008; Plotnikoff ve ark., 2015; Turkiewicz ve ark., 2015). Başka bir epidemiyolojik çalışmada ise Japonlarda, Amerika’da yapılan çalışmalara göre diz OA ilerlemesinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç Japon yaşam kültüründeki diz çökerek oturma alışkanlıklarının ve etnik altyapının OA ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Muraki ve ark., 2012). Yine bir diğer çalışmada erkeklerde sağ dizde sol dize göre daha fazla OA saptandığını fakat kadınlarda her iki dizde benzer oranda görüldüğünü gözlemlenmiştir (Michael ve ark., 2010).

Diz OA çoğu durumda yavaş ilerleyici kronik bir hastalık olarak ele alınmaktadır. Fakat diz OA'lı bireylerin tahminen 7'de birinde 4 yıl içinde akselere diz OA denilen daha hızlı ilerleyici bir hastalığın radyolojik ve klinik belirtileri ortaya çıkar. Tanım olarak akselere OA tanımı, Kellgren – Lawrence sınıflamasına göre evre 0 veya 1 olan hastanın, 4 yıldan daha az bir sürede evre 3 veya 4'e ilerlemesidir. (Davis ve ark., 2017; Driban ve ark., 2014; Driban ve ark., 2016). Akselere OA gelişenlerin yaklaşık üçte ikisinde bu ilerlemenin 1 yıl içinde olacağı ifade edilmektedir (Driban ve ark., 2016; Riddle ve ark., 2016).

Prevalans çalışmalarında farklılıkların önemli sebeplerinden bir tanesi tanı için kullanılan parametrelerin farklılığıdır. Bazı çalışmalar radyolojik OA varlığını değerlendirirken bazı çalışmalar klinik bulgulara bağlı OA tanısını kullanmayı tercih etmiştir. Bu nedenle klinik ve radyolojik OA verilerinin korelasyonu önemlidir. Diz ağrısı olan 50 yaş üzeri hastalarda, semptom ve bulgularla radyolojik OA'nın varlığının tespit edilip edilemeyeceği incelenmiştir. Klinik belirti ve bulgular olarak merdiven inmede zorluk, ele gelen efüzyon, diz fleksiyon eklem hareket açıklığında kısıtlılık, krepitasyon varlığı ve diz ağrısına sebep olabilecek kalça ve lomber bölge patolojilerinin olmaması olarak belirlenmiştir. Klinik bulgu ve belirtileri olan hastalarda % 93 spesifite ve % 99,6 sensitivite ile radyografik OA varlığı arasında korelasyon saptanmıştır (Peat ve ark., 2007). Fakat genel itibariyle diz OA'da klinik ile radyografik bulguların uyumlu olmayabileceği ifade edilmektedir. Orta derece radyografik diz OA'sı olan hastaların % 40'ında, ileri evre diz OA'sı olan hastaların % 60'ında semptomatik bulgular gözlenmiştir (Anderson ve Felson, 1988; Palazzo ve ark., 2016). Diz ağrısı ile radyolojik olarak dizde osteofit varlığının, eklem aralığı daralmasına göre daha uyumlu olduğu saptanmıştır (Cicuttini ve ark., 1996). Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile yapılan incelemelerde sinovyal hipertrofi, sinovyal efüzyon ve subkondral kemik iliği ödemi varlığı diz ağrısı ile en ilişkili faktörler olarak belirlenmiştir (Wenham ve Conaghan, 2009; Yusuf ve ark., 2011).

2.1.2. Osteoartrit etyolojisi ve risk faktörleri

OA etyolojisinde sistemik ve lokal risk faktörleri rol oynamaktadır. Bu faktörlerin iyi tanınması ve yönetimi hastalığın progresyonunun önlenmesi için önemli bir adımdır. İleri yaş, cinsiyet, artmış vücut kitle indeksi, artmış varus veya valgus statik dizilimi,

östrojen kullanımı, aile öyküsü, metabolik hastalıklar, diyet, sigara, alkol, mesleki aktivasyonlar, sportif ve travmatik durumlara bağlı olarak OA gelişebilmektedir (Bilge ve ark., 2018; McAlindon ve ark., 2014). Aynı zamanda kas güçsüzlüğü ve propriosepsiyon bozukluğu, hipermobilité gibi durumlarda da OA gelişimine yatkınlık gözlemlenebilir (Driban ve ark., 2020; Villafañe ve ark., 2019). Risk faktörlerinin bazıları şu şekilde özetlenebilir:

- Tüm eklemler için ortak olan risk faktörü yaştır. İleri yaş ile birlikte OA sıklığı artmaktadır (Heidari, 2011).
- OA'ya yatkınlığın yaklaşık %50'si genetik faktörlerle ilişkilendirilmiştir (Spector ve MacGregor, 2004).
- Vücut kütle indeksi (VKİ) 30 kg / m² ve üzerinde olan kişilerde diz OA riski yaklaşık 7 kat artmaktadır (Coggon ve ark., 2001). On yıllık bir sürede, ortalama 5,1 kg kadar kilo kaybının OA gelişme riskini %50'den fazla azalttığı gösterilmiştir (Felson ve ark., 1992).
- Genel olarak bakıldığında, kadınlar erkeklere göre daha fazla OA riski taşır (Garstang ve Stitik, 2006).
- Sigara içmenin OA açısından risk durumu çelişkilidir. Yapılan bir meta – analiz raporunda sigara içmenin neredeyse diz OA açısından koruyucu olduğuna dair şüphe uyandırır da vaka – kontrol çalışmaları dışlandığında böyle bir koruyuculuğun olmadığı ifade edilmiştir. Fakat risk durumu belirsizliğini korumaktadır (Blagojevic ve ark., 2010).
- Daha önce diz travması geçiren bireylerin, diz OA yönünde yaklaşık 3,86 kat daha fazla risk altında olduğu belirlenmiştir (Blagojevic ve ark., 2010; Gelber ve ark., 2000).
- Elde heberden düşümlerinin varlığı birçok çalışmada diz OA için risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (Dawson ve ark., 2003; Felson ve ark., 1997; McAlindon ve ark., 1996).
- Günde 2 saatten fazla ayakta durma, diz çökerek yapılan işlerde çalışma, merdiven çıkma, ağırlık kaldırma ve aşırı araç kullanımının diz OA'yı artırabileceği düşünülmektedir (Blagojevic ve ark., 2010).
- Her ne kadar kanıtlar çelişkili olsa da dizlere aşırı yük binen sporla uğraşanlarda (futbolcu, halterci, koşucu vs.) diz OA riskinin artabileceği ifade

edilmiştir (Kujala ve ark., 1995; Sandmark ve Vingård, 1999; Thelin ve ark., 2006).

- Menisektomi ameliyatı geçirmiş hastalarda ilerleyen yıllarda diz OA gelişimi riskinin arttığı belirtilmiştir (Englund ve ark., 2003; Englund ve Lohmander, 2004; Roos ve ark., 1998).
- Dizde genu varum bozukluğu ve serumda artmış hyaluronik asit seviyesinin bir meta – analiz raporunda diz OA için risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Bastick ve ark., 2015).

Akselere diz OA gelişen kişiler genellikle ileri yaş ve aşırı kiloya sahip bireylerdir. Özellikle yakın zamanda diz yaralanması gelişen ve risk faktörlerine sahip bireylerde akselere diz OA gelişme riski daha yüksektir (Driban ve ark., 2014, 2020). Fakat bu diz yaralanması olayı sıklıkla OA başlamadan son 1 yıl içinde gerçekleşmektedir (Davis ve ark., 2017). Akselere diz OA gelişen bireylerin herhangi bir travma hatırlamasa dahi yaklaşık yüzde 40'ında MRG'de medial menisküs patolojisi (radyal yırtık, kök yırtığı, kompleks yırtıklar) bulunduğu saptanmıştır (Davis ve ark., 2018).

Koronal tibial eğim açısı anormal alt ekstremitte biyomekaniği ile ilişkilidir. Bu açı tibianın uzun eksenine dik çizilen bir doğru ile, tibianın medial ve lateral platosuna çizilen doğru arasındaki açıdır. Bu açıda farklılık genellikle varus ya da valgus dizilim bozukluğunda gözlenmektedir. Bu açıda 1 derecelik artışın akselere diz OA gelişme riskini % 15 artırdığı raporlanmıştır (Driban ve ark., 2016).

2.1.3. Osteoartrit sınıflandırması

OA sınıflaması tutulan ekleme, etyolojiye veya spesifik özelliklerin varlığına göre yapılabilmektedir (Altman ve ark., 1986; Karataş, 2011; Sharma ve ark., 2006). OA sınıflamaları çeşitlerine göre Tablo 2.1., Tablo 2.2. ve Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.1. OA'nın tutulan ekleme göre sınıflandırılması

Tutulan eklem sayısına göre	Tutulan eklem tipine göre
Monoartiküler	Kalça
Oligoartiküler	Diz
Poliartiküler	El
	Vertebra
	Diğer

Tablo 2.2. OA'nın spesifik özelliklere göre sınıflandırılması

İnflamatuvar OA
Eroziv OA
Atrofik / destrüktif OA
Kondrokalsinozis ile beraber olan OA
Diğerleri

Tablo 2.3. OA'nın etyolojiye göre sınıflandırılması

1. İdiyopatik (primer) A) Lokalize - El: Heberden ve Bouchard nodülleri, eroziv interfalangeal (nodal, non-nodal) - Ayak: Halluks valgus, halluks rigidus, çekiç parmak, talonaviküler - Diz: Medial kompartman, lateral kompartman, patellofemoral kompartman - Kalça: Eksentrik (superior), konsantrik (aksiyel ve medial), diffüz (koksa senilis) - Omurga: Apofizer eklemler, intervertebral disk, spondilozis - Diğer bölgeler: Akromiyoklaviküler, glenohumeral, tibiotalar, temporomandibular B) Generalize: 3 veya daha fazla alanı etkiler C) Herediter - Alt gruplar (Varyant) - Generalize OA - Eroziv inflamatuvar OA - Diffüz İdiyopatik İskelet Hiperosteozisi (DISH) - Kondromalazi patella	2. Sekonder A) Travma - Akut: Majör eklem travması (intraartiküler kırık) - Kronik: Eklem cerrahisi (menisektomi) B) Konjenital veya gelişimsel hastalıklar: Leg-Calve-Perthes, konjenital kalça çıkığı, epifiz kayması, asetabuler displazi, protruzyo asetabuli, ekstremiteler arası uzunluk farkı, valgus/varus deformitesi, hipermobilité sendromu, epifizyal displazi, Stickler sendromu, Blount hastalığı, Morquio sendromu C) Metabolik hastalıklar: Okronozis (alkaptonüri), hemokromatozis, Wilson hastalığı, gaucher hastalığı D) Endokrin hastalıklar: Akromegali, Hiperparatiroidizm, Diabetes mellitus (DM), Hipotiroidizm E) Kalsiyum depo hastalıkları ve diğer kristal artropatiler: Gut, Kalsiyum pirofosfat dihidrat depozisyonu, Hidroksiapatit artropatisi, Oktakalsiyum fosfat, Trikalsiyum fosfat F) Nöropatik artropati: Tabes Dorsalis, DM, diğer nöropatiler, intraartiküler steroid aşırı kullanımı G) Endemik bozukluklar: Kashin-Beck, Mseleni, Malmedj Hastalığı, Handigodu Hastalığı H) Diğer kemik ve eklem hastalıkları: Avasküler nekroz (osteonekroz), enfeksiyon, paget, osteopetrozis, osteokondritis dissekans, romatoid artrit
---	---

2.1.4. Osteoartrit patogenezi

OA patogenezde mekanik, inflamatuvar, moleküler ve enzimatik reaksiyonlar sonucunda özellikle eklem kartilajında yapım ve yıkım arasındaki dengenin bozulduğu bir hastalıktır (Bliddal, 2020).

Ekleme binen yükün artması ile OA riski artmasına rağmen artık yükün büyüklüğünden ziyade sıklığı ile daha çok ilişkili olduğu düşünülmektedir (Atalay ve ark., 2013). Mevcut veriler tek bir faktörün değil multipl etkenin sebep olabileceğini düşündürmektedir. Eklem kıkırdağı ile birlikte subkondral kemik, eklem kapsülü, menisküs, tendonlar, ligamanlar ve sinovyum etkilenmektedir. İlk etkilenen yapılar ise eklem kıkırdağı ve subkondral kemiktir (Setton ve ark., 1997). Eklem kıkırdağında fibrilasyon, fissür oluşumu, ülserasyon ve eklem yüzeyinin kaybı ile sonuç olarak dejenerasyon gelişir. Subkondral kemikte ise kistler, skleroz ve osteofit oluşumu görülür.

Subkondral kemik içerisinde bulunan subkondral trabeküller, kıkırdağın beslenmesine yardımcı olur. Aynı zamanda eklem kıkırdağına mekanik destek sağlar. Bu nedenle subkondral kemikte oluşan dejenerasyon kıkırdağın hem beslenmesini hem de onarımını olumsuz yönde etkileyecektir (Goldring ve Goldring, 2016). 24 ay boyunca takip edilen bir grup hastada dizde subkondral kemikte kemik iliği lezyonu olan bölgelerde kıkırdak hacminde kayıpların olduğu gözlenmiştir (Raynauld ve ark., 2008).

Literatürde OA ile osteoartroz teriminin geçerliliği sorgulanmıştır. Uzun yıllar boyunca OA, yıpranma sonucunda kıkırdak matrisinde kırılmanın artışı ve kıkırdak kaybı olarak değerlendirilmiştir. Bunun nedeni olarak kilo, mesleki faktörler, egzersiz, anatomik bozukluklar gibi sebeplerle aşırı yüklenmenin kıkırdak dokuda oluşturduğu harabiyet gösterilmiştir. Kıkırdakta bulunan düşük metabolik aktiviteye sebep olan kondrositlerin kendini yenileme kapasitesinin düşük olması da bu savı desteklemiştir. Bu özelliğinden dolayı non – inflammatuar hastalık olarak kabul edilmiş ve çalışmalarda genellikle inflammatuar hastalıkların kontrol grubu olarak yer almıştır (Abramson ve ark., 2006; Pelletier ve ark., 2001). Fakat 1990’lardan sonra yapılan çalışmalar özellikle sinovyum ve subkondral kemikte oluşan düşük düzey inflamasyonun OA’nın itici gücü olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle osteoartroz yerine OA teriminin daha doğru olacağı ifade edilmiştir (Berenbaum, 2013).

Aktif inflammatuar yollar genelinde diz OA’da çalışılmış olup patogeneizde rol alan en önemli inflammatuar araçlar İnterlökin (IL) - 1 β , Tümör Nekroz Faktör (TNF) – α ve IL - 6’dır (Scanzello, 2017). Proinflammatuar sitokinlerle (IL - 1 β , TNF – α , IL – 6, IL

- 15, IL – 17, IL – 18, IL – 21, IL - 22), antiinflamatuvar sitokinler (IL – 4, IL – 10) arasındaki denge proinflamatuvar sitokinler lehine bozulmaktadır. Bunun sonucunda ise matriks metalloproteinazlar (MMP), trombospondin motifli bir disintegrin ve metalloproteinaz (ADAMTS), siklooksijenaz – 2 (COX-2), prostoglandin – E2 (PG - E2) ve nitrik oksit (NO) gibi moleküller aracılığıyla kartilaj dejenerasyonu ve eklem inflamasyonu ortaya çıkmaktadır (Molnar ve ark., 2021).

IL - 1 β , çok sayıda hastalığın patogenezinde yer alan proinflamatuvar bir moleküldür. Etkilerini IL - 1 reseptör I (IL – 1RI) adlı transmembran proteine bağlanarak gösterir. Aynı reseptöre IL - 1 reseptör antagonisti (IL – 1Ra) de bağlanmaktadır. Dolayısıyla IL – 1Ra ile IL – 1 β , IL – 1RI reseptörüne rekabet ederek bağlanırlar (Fields ve ark., 2019). Risk faktörlerinden bağımsız olarak OA'nın radyolojik aşaması ile IL – 1Ra seviyesinin korele olduğu gözlenmiştir (Attur ve ark., 2015). Ayrıca OA oluşmuş insan kondrosit hücrelerinde in vitro olarak IL – 1RI sayısının arttığı gözlemlenmiştir (Martel - Pelletier ve ark., 1992). Başka bir çalışma eklem efüzyonu olan OA hastalarının serumlarında kontrol gruplarına kıyasla IL - 1 β , IL – 1Ra ve IL – 6 düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur (Sohn ve ark., 2012). IL – 1 β reseptöre bağlandığında proinflamatuvar sinyal yollarını aktive ederek OA'nın progresyonuna yol açmaktadır. IL – 1Ra ise aynı reseptöre bağlanarak IL - 1 β 'nin etkisini bloke etmektedir. Yapılan bir çalışmada IL – 1 β ekspresyonunda artışın diz OA hastalarında artan diz ağrısı ile ilişkili olduğunu ve diz OA ilerlemesini öngörebileceği sonucuna varılmıştır (Attur ve ark., 2011). IL – 1 β 'nin etkisi ile MMP - 1, MMP - 3, MMP – 13, ADAMTS – 4 ve ADAMTS – 5 gibi kollajenaz ve agrekanazlar indüklenerek ekstraselüler matriksin bozulmasına yol açar. Bunun sonucunda kondrositlerde hipertrofi, diferansiasyon ve en son olarak da apoptozis gözlenir. Aynı zamanda sinovyal inflamasyona da katkıda bulunur (Chow ve Chin, 2020; Hwang ve Kim, 2015; Jenei - Lanzl ve ark., 2019) IL – 1 β ek olarak NF – KB aracılığıyla tip II kollajen ekspresyonunda azalmaya yol açarak OA oluşumuna ve progresyonuna yol açar (Choi ve ark., 2019). IL – 1 β 'nin OA araştırmalarında en çok göze çarpan sitokin olması sebebiyle tedavide terapötik bir hedef olabileceği fikri akla gelmiştir. Fakat şimdiye kadar bu konuda yapılan çalışmalar yüz güldürücü olmamıştır (Chevalier ve ark., 2009, 2013; Theeuwes ve ark., 2021). Bu duruma sebep olarak OA'da birden çok sitokin patogeneizde rol oynuyor olması düşünülmektedir.

TNF - α , OA'da IL - 1 β ile birlikte en önemli proinflamatuvar sitokindir (Arora ve ark., 2023; Westacott ve ark., 2000). TNF reseptörü 1 (TNFR 1) ve TNF reseptörü 2 (TNFR 2) olmak üzere iki reseptörü bulunmaktadır (Idriss ve Naismith, 2000). TNFR - 1 reseptör aktivitesinin lokal kıkırdak doku kaybı ile ilişkili olduğu önerilmekle birlikte her iki reseptör aktivitesinin de OA gelişimi ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Westacott ve ark., 2000). TNF - α molekülü TNFR 1 reseptörüne bağlandığında kompleks 1 ve kompleks 2 denen sinyal yolları indüklenir. Kompleks 1 daha çok proinflamatuvar yolları indüklerken, Kompleks 2 apoptoz ve hücre ölümüne sebep olur (Idriss ve Naismith, 2000; Zelová ve Hošek, 2013). Özellikle Kompleks 2'nin aktive olmasından dolayı apoptotik etkiden dolayı kıkırdığın onarım olasılığı azalmaktadır. TNF - α , IL - 1 β ile aynı sinyal yolları üzerinde etki ederek OA oluşumunda sinerjistik etki gösterir. Sonuç olarak tip II kollajen sentezi bloke olur ve ekstraselüler matriks yıkıma uğrar (Henderson ve Pettipher, 1989; Séguin ve Bernier, 2003).

Bu iki ana proinflamatuvar sitokin haricinde IL - 6, IL - 15, IL - 17, IL - 18, IL - 21 ve IL - 22'nin OA patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir (Latourte ve ark., 2017; Mimpfen ve ark., 2021; Molnar ve ark., 2021; Scanzello ve ark., 2009; Shan ve ark., 2017; Y. Wang ve ark., 2014; Yi ve ark., 2021). Bu sitokinlerden özellikle IL - 15'in OA'lı hastaların diz eklemi sinovyal sıvıdaki miktarında artma ve serum IL - 15 seviyesi ile WOMAC ağrı skorunda ilişki saptanmıştır (Sun ve ark., 2013; Tao ve ark., 2015). IL - 18'in sinovyal sıvı ve serum seviyeleri ise OA'nın radyolojik şiddeti ile korelasyon göstermiştir (Y. Wang ve ark., 2014). Antiinflamatuvar sitokinlerden IL - 4 ve IL - 10 araştırılmış olup henüz OA patogenezinde yeri aydınlatılamamıştır (Forster ve ark., 2004; Schulze - Tanzil ve ark., 2009).

OA patogenezinde oksidatif stresin rol aldığı da düşünülmektedir. Hastalarda süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerde azalma saptanmıştır. Aynı şekilde reaktif oksijen türleri oluşumunun artması ile kıkırdak dejenerasyonunun arttığı gözlenmiştir (Zahan ve ark., 2020).

OA'nın erken evre özelliklerinden birisi subkondral kemikte oluşan neoanjiogenezdır. Bunun sonucunda avasküler olan kıkırdak doku içerisine kan damarı invazyonu gözlenir (Coaccioli ve ark., 2022). Anjiogenezin OA patogenezinde anahtar bir rolü olduğu ve inflamatuvar hücrelerin göçünü kolaylaştırdığı gözlenmiştir. Yeni oluşan

vasküler yapılar çevresinde duyuşsal sinirler de oluşmaya başlar. Normal dokuda innerve olmayan eklem kıkırdağı, menisküs ve osteofitik yapılarda bu nedenle oluşun duyuşsal sinirler aracılığıyla ağrı oluşumu gözlenir (Hu ve ark., 2021; MacDonald ve ark., 2018).

2.1.5. Diz osteoartritinde gözlenen klinik bulgular ve fizik muayene bulguları

Diz OA'da en sık görülen bulgu eklem ağrısıdır. > 65 yaş diz OA bulunan hastalarda ağrı anterior bölgede daha çok saptanmıştır (Hana ve ark., 2018). Ağrı özellikle bir istirahat periyodunun ardından hareketle kötüleşme eğilimindedir. OA'ya bağılı sabah tutukluğu gözlenebilir fakat süre inflamatuvar hastalıklarda gözlenenin aksine 30 dk'yı geçmez. Dizde kilitlenme ya da özellikle merdiven inip çıkmakla oluşun instabilite gözlenebilir. Hastalarda dizde efüzyon ve sinovit oluşumu sonucunda eklemde ısı artışı saptanabilir. Fizik muayenede inspeksiyon ile dizilim bozukluğına bağılı genu varum ya da genu valgum gözlenebilir. Eklem hareket açıklığında azalma sıklıkla gözlenmektedir. Aynı zamanda patellanın mobilitesinde azalma da tespit edilebilir. Genellikle evrenin ilerlemesi ile uyumlu olarak krepitasyonda artış hissedilmektedir. Bazı hastalarda dizin posteriorunda ele gelen Baker kisti saptanabilir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 50 – 70 yaş arası diz OA bulunan hastaların yaklaşık % 12'sinde sarkopeni bulunduğı saptanmıştır. Sarkopenisi olan hastalarda diz ağrısı skorlarının daha yüksek olduğı gözlenmiştir (Aslan ve Genç, 2023). Diz OA hastalarında medial gastroknemius, rektus femoris ve vastus medialis kaslarında daha sık olmak üzere miyofasyal tetik noktalar sıklıkla tespit edilmektedir (Albuquerque - García ve ark., 2015; Dor ve Kalichman, 2017). Bu klinik bulgular neticesinde fonksiyon kaybı, hareket bozukluğı, yürüyüş anormallikleri ve yorgunluk gözlenebilir (Katz ve ark., 2021; Sinusas, 2012).

Tibiofemoral ve patellofemoral eklem OA'yı klinik bulgulara göre ayırt edebilmek için yapılan bir araştırmada geçmişte ciddi efüzyon öyküsü, valgus dizilim bozukluğı, belirgin azalmış kuadriseps kas gücü ve patella üzerine yapılan bası le ağrı oluşması ön planda patellofemoral eklem OA lehine düşünülürken, travma öyküsü, varus dizilim bozukluğı, kemik hipertrofisi, diz fleksiyon hareket açıklığında azalma ve sabit fleksiyon deformitesi ön planda tibiofemoral OA lehine bulgular olarak raporlanmıştır. Bu çalışmanın verilerine göre tibiofemoral OA medial tarafta laterale

göre 4 kat fazla gözlenirken, patellofemoral OA lateral tarafta mediale göre 2 kat fazla gözlenmiştir. (Peat ve ark., 2012).

2.1.6. Diz osteoartrit tanısı

Diz OA tanısı için ilk kriterler 1986 yılında American College of Rheumatology (ACR) tarafından yayımlanmıştır. İlk planda klasifikasyon kriterleri olarak tanımlanmış daha sonrasında çalışmalarda tanı kriterleri olarak benimsenmiştir (Altman ve ark., 1986). Klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgulara göre bu kriterlere oluşturulmuştur (Tablo 2.4.).

Tablo 2.4. ACR OA tanı kriterleri

Klinik ve laboratuvar	Klinik ve radyografik	Klinik
Son aylarda devamlı diz ağrısına ek olarak aşağıdaki 9 kriterden en az 5'i bulunmalı.	Son aylarda devamlı diz ağrısına ek olarak aşağıdaki 3 kriterden en az 1'i bulunmalı.	Son aylarda devamlı diz ağrısına ek olarak aşağıdaki 6 kriterden en az 3'ü bulunmalı.
1. Yaş > 50	1. Yaş > 50	1. Yaş > 50
2. Sabah tutukluğu < 30 dk	2. Sabah tutukluğu < 30 dk	2. Sabah tutukluğu < 30 dk
3. Krepitasyon	3. Akif harekette krepitasyon ve osteofit	3. Aktif harekette krepitasyon
4. Kemikte hassasiyet		4. Kemikte hassasiyet
5. Kemikte genişleme		5. Kemikte genişleme
6. Non – palpabl ısı artışı		6. Non – palpabl ısı artışı
7. Sedimentasyon hızı (1 saat) < 40 mm/ saat		
8. Romatoid faktör		
9. Sinovyal sıvıda OA lehine bulgular (visköz, berrak, lökosit < 2000 / mm ³)		
% 92 sensitivite	% 91 sensitivite	% 95 sensitivite
% 75 spesifite	% 86 spesifite	% 69 spesifite

EULAR, 2009 yılında diz OA tanısı için yayınladığı kılavuzda, üç semptom (persistan diz ağrısı, sabah tutukluğu ve diz fonksiyonlarında azalma) ve üç belirtinin (krepitasyon, hareket kısıtlılığı ve kemik hipertrofisi) OA tanısı için daha kullanışlı olduğunu belirtmiştir. Eğer 6 bulgunun tamamı varsa % 99 olasılıkla radyografik diz OA'sı da saptanmıştır (W. Zhang ve ark., 2010).

Ulusal Sağlık ve Bakım Enstitüsü (NICE), 2022 yılında güncellediği kriterlerde 45 yaşından büyük hastalarda, hareketle artan diz ağrısı ve sabah tutukluğu < 30 dk varlığında diz OA tanısı düşünülmesi gerektiğini önermişlerdir. (<https://www.nice.org.uk/guidance/ng226>, Erişim Tarihi: 29 Ekim 2023).

OA tanısı büyük ölçüde klinik bir tanıdır. Bu nedenle fizik muayene ve anamnez çok önem arz etmektedir. Detaylı bir klinisyen muayenesinin ardından direkt grafi ile genellikle diz OA tanısı koymak mümkündür. Tibiofemoral OA için antero – posterior grafi yeterli iken, patellofemoral OA için lateral ve tanjansiyel grafi istemek yararlı olacaktır. Direkt grafide beklenen değişiklikler osteofitler, eklem aralığında daralma, subkondral skleroz ve subkondral kistlerdir (W. Zhang ve ark., 2010). Bilgisayarlı tomografi ve MRG gibi ileri görüntüleme teknikleri menisküs veya ligaman yaralanması düşünülen durumlarda ya da travma varlığında değerlidir. Ek olarak non-invaziv ve hızlı bir görüntüleme yöntemi olması nedeniyle ultrasonografi ile dizde efüzyon varlığı, ligaman ve tendon değerlendirmesi, kas dokuda bulunan patolojilerin değerlendirilmesi mümkündür. Laboratuvar testleri daha çok komplikasyon değerlendirilmesi ve ayırıcı tanı için gerekli durumlarda istenebilir. Sinovyal sıvı değerlendirmesi ise oluşan efüzyonun OA'ya bağlı olup olmadığını değerlendirmek için kullanılabilmektedir (Kolasinski ve ark., 2020; Manek ve Lane, 2000).

Diz OA'nın erken tanısı için eklemde oluşan titreşimleri cilt üzerine bağlanan özel araçlar sayesinde ölçen bir tanı aracı olarak vibroartrografi cihazları üretilmiştir (G. F. McCoy ve ark., 1987; Tanaka ve Hoshiyama, 2012). Güvenli bir tanı aracı olan bu teknik ile OA'ya bağlı kıkırdak lezyonlarında yüksek doğrulukla tanı koyulabildiği gösterilmiştir (Befrui ve ark., 2018; Karpiński ve ark., 2022).

Diz OA'nın radyolojik olarak evrelendirmesinde en sık 1957 yılında oluşturulan Kellgren - Lawrence evreleme sistemi kullanılmaktadır (Kellgren ve Lawrence, 1957). Bu evrelendirme sistemi 0 ile 4 arasındaki evrelerden oluşur. Evre 0 radyolojik olarak OA olmadığını, evre 4 ise ileri OA varlığını ifade etmektedir. Kellgren – Lawrence evrelendirme sistemi Tablo 2.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5. Kellgren – Lawrence evrelendirme sistemi

Evre 0	Normal radyolojik bulgular
Evre 1	Minimal osteofit ve şüpheli bulgular
Evre 2	Belirgin osteofitler, eklem aralığında şüpheli daralma
Evre 3	Eklem aralığında belirgin daralma, multipl osteofitler, subkondral kemik kistleri
Evre 4	Büyük ve belirgin osteofitler, Eklem aralığında ileri düzey daralma, belirgin subkondral skleroz ve kemik deformiteleri

2.1.7. Diz osteoartrit tedavisi

Günümüzde OA'nın küratif medikal tedavisi mümkün olmadığı halde ağıryı azaltmak, eklem hareketliliğini arttırmak ve engelliliğı azaltmak gibi yöntemlerle hastanın yaşam kalitesi iyileştirebilir. Diz OA'nın tedavisi konservatif ve cerrahi tedavi olarak ikiye ayrılır. Konservatif tedavi ise farmakolojik ve farmakolojik olmayan tedavi yöntemlerinin birlikte kullanımını gerektirir.

Diz OA'nın farmakolojik olmayan tedavisi, bireysel eğitim, egzersiz, yardımcı alet kullanımı (baston, tabanlık, dizlik, kama vs.) ve kilo vermeyi kapsamalıdır. Yardımcı alet kullanımının amacı dizde ağıryı azaltmak ve fonksiyonelliğı artırmaktır. En çok kullanılan yardımcı yürüme cihazı bastondur. Diz OA olan hastalarda karşı elde baston kullanımı ile eklem binen yük azaltılabilir. Medial kompartman OA hastalarında lateral kama (subtalar destekli)  nerilirken, lateral kompartman OA hastalarında medial kama önerilmektedir. Lateralize patella bulunan hastalarda medial patella bantlama uygulanabilir. Diz breysleri özellikle instabilitesi baskın olan dizlerde önerilmektedir. Fakat dize binen kompresif yükleri artıracadı için, ortası delikli model kullanımı ile basıncın azaltılacağı ifade edilmektedir. Ayakkabı tabanlarında viskoelastik tabanlık kullanımı ile dize binen yükün dengeli dağılımına katkıda bulunulabilir (Hinman ve Bennell, 2009; Robert - Lachaine ve ark., 2022).

Düzenli egzersiz yapılması kıkırdağın beslenmesini artırırken aynı zamanda inflamatuvar yolların da inhibe olmasına neden olur. Çalışmalarda genellikle aerobik egzersizler (koşu, bisiklete binme, yüzme vb.), güçlendirme egzersizleri ve pilates incelenmiştir. Aerobik egzersizlerden en çok bisiklet sürme önerilirken, güçlendirme egzersizlerinden kalça abduktor, kalça adduktor, diz fleks r, diz ekstansör ( zellikle vastus medialis obliquus) ve kor stabilizasyon egzersizleri tavsiye edilmiştir. Bir meta – analiz raporunda egzersizin faydalı etkilerini görebilmek için aerobik, güçlendirme ve pilates egzersizlerinin 8 – 12 hafta boyunca, haftada 3 – 5 seans, her seans 1 saat sürecek şekilde planlanması gerektiğı vurgulanmıştır. Egzersiz sonucunda OA hastalarında ağrıda azalma, eklem hareket açıklığında artma, propriosepsiyonda iyileşme, kas gücünde artış ve yaşam fonksiyonlarında iyileşme gözlenmiştir (Raposo ve ark., 2021). Akuatik egzersiz programı kas g c s zl ğ n n belirgin olduğu hastalarda olası yaralanma riskinden dolayı Osteoarthritis Research Society

International (OARSI) 2019 kılavuzunda önerilmemektedir. Bunlara ek olarak termal modaliteler, elektroterapi, lazer, manyetik alan tedavisi, akupunktur, tai chi ve yoga metodları da tedavi programına eklenebilir (Laufer ve ark., 2014; Manheimer ve ark., 2010; Wortley ve ark., 2013).

Farmakolojik olarak ilk tercih uzun yıllardır asetaminofen olsa da artık güncel gelişmeler ışığında etkinliğinin az olduğu ve yan etki profilinin de sanıldığı kadar masum olmadığı düşünülerek OA tedavisindeki yerini kaybetmeye başlamıştır. ACR 2019 OA tedavi önerilerinde parasetamolü önerirken, OARSI 2019 tedavi önerilerinde parasetamol şartlı olarak önerilmiştir. Lokal pomadlar ve ağrının kesilemediği durumlarda NSAİİ veya opioidler kullanılmaktadır. Oral veya parenteral NSAİİ'ler gastrointestinal risk nedeniyle gerekli durumlarda proton pompa inhibitörleri ile birlikte ve olabilecek en düşük dozda ve en kısa süre kullanılmalıdır. Ciddi gastrointestinal riski olan hastalarda non - selektif NSAİİ yerine COX – 2 inhibitörleri kullanılmalıdır. Kardiyovasküler riski yüksek olan hastalarda oral NSAİİ'lerden kaçınmak (özellikle COX – 2 inhibitörleri), ihtiyaç durumunda topikal NSAİİ'leri ön planda düşünmek daha akılcı bir tercih olabilir. Hatta OARSI 2019 kılavuzunda topikal NSAİİ'lerin yan etki profilinin az olması ve oral doza göre çok daha az dozda kullanımları nedeniyle daha ön planda önerilmektedir.

Depresyon ve / veya yaygın ağrısı bulunan hastalarda duloksetin kullanımına işaret edilmiştir. Opiodler konusunda kimyasal bağımlılık riski endişelere yol açsa da dirençli ağrısı olan hastalarda oral ve transdermal opioid kullanımı önerilmiştir. En çok tercih edilmesi gereken opioid ajan ise tramadoldur (Bannuru ve ark. 2019; Sabha ve Hochberg 2022).

Dizde efüzyonu olan hastalarda intraartiküler kortikosteroid enjeksiyonu önerilmektedir. Bu hastalarda genellikle lokal anestezi ajanlarından lidokain tercih edilir. Lidokainin etkisi ile kısa süreli rahatlama sağlanabilir. Bu nedenle hastalara ağrıların 24 saat içinde tekrar başlayabileceği söylenmelidir. Analjezik etkinin tekrar 48 saat civarında başlaması beklenir. İhtiyaca göre tekrarlayan enjeksiyonların yapılması mümkündür fakat yılda 4 defadan fazla intraartiküler kortikosteroid enjeksiyon önerilmemektedir (Sinusas 2012).

Kronik ağrılı durumlarda hyaluronik asit, platelet rich plasma (PRP), ozon, dekstroz proloterapi enjeksiyonları uygulamaları ile olumlu sonuçlar alınmıştır (Bannuru ve ark., 2009; Cortez ve ark., 2022; O’Connell ve ark., 2019; Oliviero ve ark., 2019; Uthman ve ark., 2003). OARSI 2019 OA tedavi kılavuzunda sabunlaşmamış avokado ve soya ekstresi, boswellia, kurkumin ürünleri koşullu olarak önerilirken, kaplıca tedavisi, metilsülfonilmetan, glukozamin sülfat, kondroidin sülfat, kollajen ve D vitamini takviyelerine şüphe ile yaklaşılması gerektiği ifade edilmiştir. Topikal kapsaisin ise eski OARSI kılavuzun aksine OA tedavisinde önerilmemektedir. ACR 2019 kılavuzunda ise topikal kapsaisin kullanımı yerini korumaktadır (Bannuru ve ark. 2019; Kolasinski ve ark. 2020).

Geleneksel ilaçlardan hidroksiklorokin ve metotreksat uzun yıllardır Romatoid Artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçların OA tedavisinde etkinliğini değerlendiren çalışmalar olmuştur. OA patogenezinde inflamatuvar mediatörlerin arttığı gösterildiği için bu ajanlar sayesinde anti – inflamatuvar etki ile dejeneratif sürecin yavaşlatılabilmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalarda hidroksiklorokinin OA tedavisinde yapısal iyileşmeyi hızlandırıcı herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Demiriz ve Sarıkaya, 2021; Kingsbury ve ark. 2018). Metotreksat ile ilgili yapılan çalışmalarda ise diz OA ağrısını azalttığı, sinoviti gerilettiği, fonksiyonel açıdan fayda sağladığı gözlenmiştir. Fakat henüz metotreksatın diz OA’da kullanılabileceğini düşündüren veriler sınırlıdır (Enteshari - Moghaddam ve ark. 2019; Kingsbury ve ark. 2015).

Eklemde yapısal hasarı durdurmak ve analjezik etkinlik ya da fonksiyonel iyileşme ile semptomları azaltarak OA’yı tedavi etmesi beklenen ajanlara OA’da hastalığı modifiye edici ajanlar (DMOAD) denilmektedir (Pelletier ve Martel - Pelletier 2007). Glukozamin, kondroidin sülfat, metilsülfonilmetan, diaserein, avokado – soya fasülyesi yağı, yumurta kabuğu zarı en bilinen örnekleridir (Debbi ve ark. 2011; Fidelix ve ark. 2014; Lambert ve ark. 2022; Reginster ve ark. 2012; Ruff ve ark. 2009; Singh ve ark. 2015). DMOAD’lar konusunda çalışmaları devam eden birçok ajan mevcuttur. Bu ajanların hedef tedavi bölgeleri kıkırdak, sinovyum ve subkondral kemik olarak değişmektedir. Şu anda aktif olarak çalışmaları devam eden ajanlar Tablo 2.6.’da gösterilmiştir (Li ve ark. 2023).

Tablo 2.6. DMOAD'dan çalışmaları devam eden ajanlar

Kıkırdaki hedefleyen DMOAD'lar	Subkondral kemiği hedefleyen DMOAD'lar	Sinovyaı hedefleyen DMOAD'lar
Fibroblast büyüme faktörü – 18: Sprifermin	Katepsin – K inhibitörü: MIV - 711	IL – 1 inhibitörleri: Gevokizumab, Lutikizumab, Anakinra, Canakinumab, Diaserein
Proteinaz inhibitörleri (MMP – 13 inhibitörleri, agrekanaz inhibitörleri)	Teriparatid	TNF – α inhibitörleri: Adalimumab, Etanersept, İnfliximab
Wingless -related integration site (Wnt) sinyal inhibitörü: Lorecivivint	Matrix ekstraselüler fosfoglikoprotein: TPX - 100	Senolitik terapiler: Fisetin
Dönüştürücü büyüme faktörü - β (TGF – β): Doku geni – C (TG – C)	Dönüştürücü büyüme faktörü - β (TGF – β): TG - C	Kurkuma longa ekstraktları
Metformin	Zoledronik asit	
PRP	Stronsiyum ranelat	
	Vitamin D	

Çalışmaları devam eden DMOAD'dan sprifermin ve MIV – 711'in kartilaj kaybını azaltabileceği düşünülmektedir (Hochberg ve ark. 2019; Lohmander ve ark. 2014). Proteinaz inhibitörleri ile hayvan çalışmaları umut verici olsa da henüz insan çalışmaları yetersizdir (Krzieski ve ark. 2007; Vandenbroucke ve Libert 2014). Wnt sinyal inhibitörü lorecivivint ile ilgili çalışmalarda sempomatik fayda gözlenirken eklem aralığında iyileşme gözlenmemiştir (Deshmukh ve ark. 2018; Sabha ve ark., 2020). Gen terapisi ürünü olan ve TGF – β transkripsiyonu sağlayan TG – C ile ilgili yapılan çalışmalarda intraartiküler enjeksiyonun ağrı, fonksiyon ve fiziksel skorlarda düzelme olduğu gözlenmiştir. Güvenlik profili ile ilgili herhangi bir sorun ile karşılaşılmamıştır. Kıkırdak onarımını tetikleyebileceği de belirtilmiştir (Guermazi ve ark. 2017; Ha ve ark. 2012; Lee ve ark. 2020). OA ve tip 2 DM olan hastalarda yapılan çalışmalarda metformin kullananlarda eklem replasman oranının daha düşük olduğu saptanmıştır (Lu ve ark. 2018). Bu çalışma ışığında metforminin OA üzerine etkinliğini değerlendiren randomize çalışmalar devam etmektedir (Ruan ve ark. 2022). Senolitik ajanlardan fisetin fare OA modelinde eklem hasarını hafiflettiği gözlenmiştir (Zheng ve ark., 2017). Katepsin – K inhibitörlerinden MIV – 711'in semptomatik diz OA hastalarında 26 hafta boyunca MRG ile ölçülen kıkırdak kaybında azalma sağladığı gözlenmiştir (Conaghan ve ark., 2020). Kurkuminin fare OA modellerinde etkili bir analjezi sağladığı gösterilmiştir (Z. Zhang ve ark., 2016). Kurkuma longa ekstresinin diz OA üzerindeki etkinliği konusunda yapılan bir çalışmada 12 hafta sonunda plasebodan daha iyi analjezi sağlamıştır. Fakat sinovit ve

kıkırdak kompozisyonuna etkisi gözlenmemiştir (Z. Wang ve ark., 2020). Yine yapılan başka bir randomize, plasebo kontrollü çok merkezli çalışmada kurkuma longa ekstresinin diz OA üzerine etkinliği incelenmiş ve ağrı palyasyonunda hızlı ve etkili bir ajan olduğu gösterilmiştir. Fakat eklem ve kıkırdak kompozisyonuna etkisini incelemek için daha uzun süreli geniş çalışmalara ihtiyaç vardır (Henrotin ve ark., 2019).

Şu ana kadar yapılan OA tedavisine özgü farmakolojik yaklaşımlar, hastalığın karmaşık patogenezinin dolayısıyla genellikle palyatif seviyede kalmıştır. Bu yaklaşımlardan DMOAD ajanları umut verici seçenekler olarak nitelendirilebilir. Fakat DMOAD ile ilgili yapılan çalışmalarda çalışmaların uzun süreli dizayn edilmemesi, eklem aralığında olan değişikliklerin direkt grafi ile değerlendirilmesi, hayvan çalışmalarından insan çalışmalarına geçiş aşamasında yaşanan sorunlar ve yan etkiler nedeniyle etkinliklerinin verimli değerlendirilmesinde güçlükler yaşanabilmektedir (S. Li ve ark., 2023).

OA'da konservatif tedaviye dirençli hastalarda ise cerrahi tedavi metodları uygulanmaktadır (Rönn ve ark., 2011). En sık tercih edilen cerrahi tedavi seçenekleri total diz eklem artroplastisi, unikompartmental diz artroplastisi, yüksek tibial osteotomi, eklem lavajı ve artroskopik debridmandır. Cerrahi tedavi uygulanan hastaların operasyon sonrasında uygun bir rehabilitasyon programına alınmasına özen gösterilmelidir (Bannuru ve ark., 2019b; Kolasinski ve ark., 2020).

2.1. Osteoartritte Hayvan Deney Modelleri

OA'nın kronik bir hastalık olması ve hastaların erken evrelerde başvurmaması nedeniyle erken evrede insanlardan numune elde edilmesi güçlüklerle yol açmaktadır. Patogenezin, tanı ve tedavi yöntemlerini daha iyi analiz edebilmesi için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Fakat hastalığın heterojenliği nedeniyle bu yöntemler tam olarak insanda oluşan OA'yı yansıtamayabilir. Bu nedenle birçok modelleme mevcuttur. Bu modellemelerden, araştırma yapılacak konuya uygun olanın seçilmesi akılcı bir yaklaşım olarak söylenebilir (Samvelyan ve ark., 2021).

Fareler, ratlar, kobaylar ve tavşanlar düşük maliyetleri sebebiyle OA modellerinde en sık tercih edilen hayvanlardır. Köpek, koyun ve at gibi büyük organizmalar, eklem

boyutu ve anatomik yapıların benzerliği nedeniyle klinik olarak daha anlamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir. Fakat büyük hayvan modellerinin dezavantajları maliyetlerinin yüksek olması, uygulama zorlukları, metabolizmanın diğer hayvan modellerine göre yavaş olması nedeniyle OA'nın daha yavaş gelişmesi ve etik kurallar olarak sayılabilir (Teeple ve ark., 2013).

OA'nın primer ve sekonder olarak iki ana sınıflandırılması nedeniyle hayvan modelleri de genel olarak bu iki alt tiplere göre sınıflandırılabilir (Altman ve ark., 1986).

2.2.1. Primer osteoartrit modelleri

Bu modeller insanda oluşan OA'nın doğal ilerleyişini daha iyi taklit ettiği için daha yakın sonuçlar verir. Zaman alıcı olması dezavantajdır. Doğal olarak oluşan modeller ve genetiği değiştirilmiş modeller olmak üzere iki ana yöntem mevcuttur (A. M. McCoy, 2015).

2.2.1.1. Doğal olarak oluşan primer osteoartrit modelleri

Genellikle fareler, kobaylar, tavşanlar ve köpeklerde inceleme yapılmaktadır. Bazı türlerde spontan OA gelişimi daha kolay oluşmasına rağmen bazı türlerde ise spontan OA güçlkle meydana gelmektedir. Örnek olarak STR / ort fare türü erken dönemde OA gelişimine yatkın bir tür olması sebebiyle, insanda gelişen primer OA'yı iyi taklit eden bir türdür (Staines ve ark., 2017). Albino Dunkin - Hartley veya Hartley kobayları, insanda oluşan primer OA ile histopatolojik olarak çok benzerlik göstermektedir. Aynı zamanda OA ile ilişkili ağrı incelemesine yatkın bir modeldir. Farelere göre daha büyük olması sebebiyle sinovyal sıvı incelenmesine daha uygun olması önemli bir avantajdır (Jimenez ve ark., 1997). Tavşanlar kırıldak tedavisinin geliştirilmesi amacıyla biyomühendislik alanında kullanılırken, köpekler ve atlar daha çok yeni terapötik müdahalelerin geliştirilmesinde önem arz etmektedir (Arzi ve ark., 2012; McIlwraith ve ark., 2011; Moreau ve ark., 2014).

2.2.1.2. Genetiği değiştirilmiş hayvanlarda oluşan primer osteoartrit modelleri

Bu modelleme OA ile ilişkili genetik altyapının haritalandırılması ile ilişkili çalışmalarda tercih edilmektedir. En sık kullanılan hayvanlar farelerdir. Fare genomunun tamamının dizilenmiş olmasının rolü bu konuda etkili olmuştur. Bu

sayede genotipin OA açısından fenotipe etkisi daha açık bir şekilde ortaya koyulmaya çalışılmıştır (Glasson, 2007).

2.2.2. Sekonder osteoartrit modelleri

Bu yöntem OA'nın en yaygın çalışılan modelidir. Sekonder OA modelleri invaziv ve non - invaziv yöntemler kullanılarak oluşturulur (Samvelyan ve ark., 2021).

2.2.2.1. İnvaziv sekonder osteoartrit modelleri

İnvaziv modeller genellikle travma ile indüklenen OA patogenezi incelemek için ve terapötik ajanların etkinliğini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu modellerin avantajı daha kısa sürede model oluşması, maliyetin düşük olması, ileri evre modellerin oluşturulabilmesi ve tekrarlanabilirliğin daha kolay olmasıdır. İnvaziv modelleme yöntemlerinde eklem biyomekaniği bozularak inflamasyon ve instabilite oluşur ve bu sayede OA modelleri oluşur (Lampropoulou - Adamidou ve ark., 2014). İnvaziv sekonder OA modelleri iki şekilde oluşturulmaktadır: Cerrahi olarak indüklenen OA modelleri, kimyasal olarak indüklenen OA modelleri (A. M. McCoy, 2015).

2.2.2.1.1. Cerrahi olarak indüklenen osteoartrit modelleri

Ön çapraz bağ transeksiyonu en sık kullanılan yöntemlerdendir. Tek başına uygulanabileceği gibi arka çapraz bağ transeksiyonu, medial ve lateral kollateral bağların kesilmesi ile birlikte de uygulanabilir. Yavaş OA gelişmesinden dolayı ilaç etkinliği, dozaj belirleme, yan etki gözlemlene gibi çalışmalarda tercih edilmektedir. Aynı zamanda OA evrelerinin kademeli olarak ilerleyişinin incelenmesine de imkân verir (Lampropoulou - Adamidou ve ark., 2014).

Medial meniskotibial ligamanın kesilmesi ile medial menisküsün destabilizasyonu cerrahi olarak kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu işlem sonucunda medial menisküsün mediale kayması lokal olarak mekanik stresin artmasına sebep olur. Yavaş bir şekilde OA modelinin oluşması sayesinde insanda oluşan OA'ya benzerlik göstermektedir. Genellikle genç hayvanlarda kullanılmaktadır. İleri yaş hayvanlarda yapılan uygulamalarda yaşa bağlı değişiklikler nedeniyle ileri evre OA oluşmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle yapılacak araştırmaya göre seçilecek hayvanın yaşı da önemlidir (Malfait ve Little, 2015).

İnsanda posttravmatik menisküsün cerrahi olarak çıkarılmasının ardından 20 yıl sonra OA gelişmektedir. Farelerde medial menisküsün kesilmesiyle 8 haftada OA'ya bağlı değişiklikler gözlenir. Ratlarda menisektomiden 2 hafta sonra subkondral kemikte değişiklikler başlar. Her hayvanın yük taşıma kapasitesi farklılık göstermektedir. Örneğin tavşanlarda mediale binen yük lateralden daha azdır. Bu nedenle lateral menisektomi medial menisektomiye göre daha hızlı OA gelişimine neden olur (Lampropoulou - Adamidou ve ark., 2014). Dolayısıyla cerrahi model seçilirken hayvanın kendi hücresel ve biyomekanik özellikleri de dikkate alınmalıdır.

İnsanda gelişen postmenopozal OA'yı taklit edebilmek amacıyla overleri alınmış hayvan modelleri geliştirilmiştir. Overleri alınmış ratlarda işlemten 9 hafta sonra OA'ya bağlı değişiklikler gözlenmeye başlar. Bu modelin postmenopozal OA'yı en iyi gösteren model olduğu gösterilmiştir (Høegh - Andersen ve ark., 2004; Qin ve ark., 2013). Bu model fare, kobay, tavşan ve koyunlarda da uygulanabilmektedir (Sniers ve ark., 2008).

2.2.2.1.2. Kimyasal olarak indüklenen osteoartrit modelleri

Bu modelleme sayesinde ameliyata gerek olmadan ve dolayısıyla enfeksiyon ihtiyacı minimize edilerek sekonder OA modeli oluşturulur. OA indüklemesi kolaydır. Tekrarlanabilmesi mümkündür. Kısa vadeli çalışmalar için yararlıdır. Kullanılan kimyasalların farklı dozda uygulanabilmesi sayesinde OA'nın farklı evreleri oluşturulabilir. Bu sayede evrelere özgü incelemeler yapılabilir. En sık kullanılan ajanlardan biri olan monosodyum iyodoasetat (MIA) molekülü aerobik glikoliz yolağının aktivitesini inhibe ederek kondrosit apoptozuna, artiküler kartilajda bozulmaya, inflamasyona ve osteofit oluşumuna sebep olur (Lampropoulou - Adamidou ve ark., 2014). MIA ile OA patogenezi, osteofit oluşumlarının incelenmesi, ilaçların terapötik ve analjezik etkinliği ve OA'ya bağlı kronik ağrı ile ilgili çalışmalar yapılması mümkündür (Morais ve ark., 2016). MIA rat modeli insanda oluşan OA histolojisine ve ağrı davranışına benzer etki göstermesi sebebiyle özellikle nosiseptif ağrı üzerine araştırma yapmak için uygun bir model olarak ifade edilmiştir. MIA enjeksiyonu ile ratlarda afferent sinirlerin duyarlılığı artarak hiperaljezi ve allodini olduğu gözlenmiştir (Combe ve ark., 2004; Marker ve Pomonis, 2012).

MIA dışında kimyasal olarak kullanılan diğer ajanlar arasında papain, kollajenaz ve kinolon antibiyotik uygulamaları bulunmaktadır (Miyachi ve ark., 1993; Sendzik ve ark., 2009; Kraan, 2023).

2.2.2.2. Non - invaziv sekonder osteoartrit modelleri

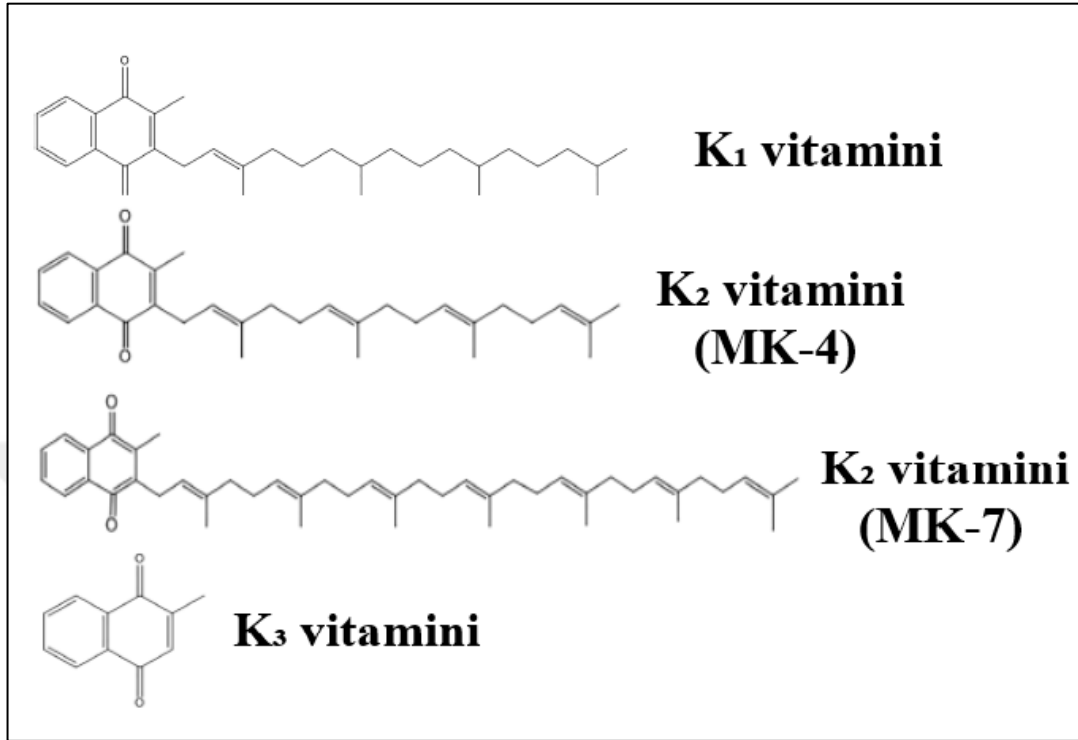
Bu modellerde mekanik dış etki yoluyla OA'nın indüklenmesi amaçlanmıştır. En sık kullanılan yöntemler intraartiküler tibial plato fraktürü oluşturulması, siklik artiküler kıkırdak kompresyonu ve tibial aşırı kompresyon yoluyla ön çapraz bağ rüptürü oluşturulması uygulamalarıdır (Christiansen ve ark., 2012; Poulet ve ark., 2011). Bu modeller ile eksternal yaralanma yoluyla oluşan insan OA patogenezi incelemeleri yapılabilmektedir (Coaccioli ve ark., 2022).

2.3. K Vitamini Çeşitleri

K vitamini, yağda çözünen bir grup vitamine verilen isimdir. K vitamini aslında gözlemci bir bilim insanının başka konuda yaptığı bir çalışmada şans eseri keşfedilmiştir. 1929 yılında Danimarka'lı Henrick Dam, kolesterolün tavukların diyet programında gerekliliği konusunda inceleme yaparken tavuklara, yağsız diyetle beslenen tavukların kanama yüzünden öldüğünü gözlemlemiştir. Bunun üzerine bir başka gruba yeşil yapraklı yonca bitkisi verdiğinde kanama olmadığını saptamıştır. Böylece özellikle yeşil yapraklı besinlerde bulunan antihemorajik bir faktör olan K vitaminin varlığı keşfedilmiştir. K harfi ise 'koagülasyon' kelimesinin baş harfinden gelmektedir (Dam, 1935). Son 30 yılda yapılan çalışmalarda K vitaminin kemik metabolizmasında kofaktör olduğu saptanmıştır (Alonso ve ark., 2023; Nieves, 2005). Osteoblastik aktivite üzerine güçlü etkisinden dolayı özellikle osteoporozda tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Plaza ve Lamson, 2005).

K vitamini yağda eriyen bir vitamindir ve 3 ana formu bulunmaktadır: K1, K2 ve K3 (Shearer, 1992). K vitaminin biyokimyasal olarak yapısında 2-metil-1,4-naftakinon grubu bulunur (Hassan, 2013). Bu ana gruba farklı yan zincirlerin bağlanması ile K vitaminin türleri oluşur. K1 vitamini fillokinon olarak bilinir ve daha çok koagülasyonla ilişkili olan klasik etkileri daha çok bilinen formudur. K2 vitamini Menakinon (MK) yan zincirlerinin sayısına göre sınıflandırılır. K3 vitamini ise

sentetik yapılı, provitamin formunda ve en basit K vitamini türüdür (Şekil 2.1) (Hamidi ve ark., 2013).



Şekil 2.1. K vitamini çeşitleri (Revize edilmiştir) (Jadhav ve ark., 2022).

K1 vitamini olan fillokinon, 4 izoprenoid kalıntısı içermektedir. Bu kalıntıların 3 tanesi doymuş bağlar içerir. K2 vitaminlerinin bundan farkı ise içerdikleri izoprenoid birimleri doymamış yapıdadır. Bu doymamış yapıların sayısına göre K2 vitamini alt tipleri isimlendirilir (MK - 4, MK - 9, MK - 13 gibi.) (Shearer ve Newman, 2008).

2.3.1. K2 vitamini sentezi ve metabolizması

K2 vitamini üzerinde bulunan izopren birim sayısına göre MK - n olarak isimlendirilir. Bu yan zincirlerin uzunluğu 4 ile 13 arasında değişmektedir (MK - 4 ile MK - 13). Esas olarak hayvansal kaynaklardan elde edilen K2 vitamini, emilimi artırabilecek ve fillokinondan daha yüksek biyoyararlanıma yol açabilecek daha fazla yağ içeren gıda matrislerinde tüketilir. Etkili emilimin sağlanabilmesi için terminal ileumun normal villus yapısına sahip olması, safra tuzları ve normal yağ emilimi gerekmektedir (Gijssbers ve ark., 1996). Diyetle alınan K vitamini hidrolitik enzimler aracılığıyla parçalanır ve enterositler tarafından emilir. Bağırsak emilimini takiben, tüm K vitamini formları şilomikronlar aracılığıyla paketlenir. Sonrasında lipoprotein lipazlar

aracılığıyla dolaşıma salınarak karaciğere yönlendirilir. Dolaşımdaki K vitamininin trigliseritlere bağlı formları, alımdan yaklaşık 4 - 10 saat sonra pik yapar ve fillokinon ve MK - 4'ün çoğunluğu, yemekten 24 saat sonra dolaşımdan uzaklaştırılır (Hussain ve ark., 1997; Sato ve ark., 2012). K2 vitamini, düşük yoğunluklu lipoproteinler tarafından karaciğerden kemik gibi ekstrahepatik dokulara taşınır (Hamidi ve ark., 2013). K vitamini yağda çözünen bir vitamin olduğu için yağlı yiyecek tüketiminden sonra K vitamini alımı ile emilim artırılabilir (Uematsu ve ark., 1996).

K vitaminin farklı formları arasında farmakokinetik olarak farklılıklar mevcuttur. K2 vitaminin K1'e göre intestinal hücrelerden daha fazla emildiği gözlenmiştir (Booth ve ark., 1997; Schurgers ve Vermeer, 2000). MK - 7'nin emilim ve biyoyararlanım olarak diğerlerinden daha güçlü etkinliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Oral alımdan sonra MK - 7'nin, K1 vitamininden 10 kat daha yüksek serum konsantrasyonuna ulaştığı raporlanmıştır. Aynı şekilde K vitaminin formları arasında plasma yarı ömürleri arasında da farklılıklar mevcuttur. Fillokinon nispeten kısa bir yarı ömre sahipken, MK - 7'nin bildirilen yarı ömrü 144 saate yakındır (Schurgers ve Vermeer, 2000; Shearer ve ark., 2012).

K vitaminin kısa zincirli formları ile uzun zincirli formları arasında absorpsiyonla birlikte doku dağılımlarında da farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Örnek olarak MK - 9'un ekstrahepatik dokulara taşınmasını daha kolay hale getiren LDL molekülüne bağlandığı gözlenmiştir (Schurgers ve Vermeer, 2002). K1 vitamininin MK - 4'e dokularda dönüşümü bazı dokularda olabilmektedir. İşaretili izotoplar kullanılarak yapılan bir hayvan çalışmasında bu dönüşümün daha çok beyin, böbrek, yağ doku ve genital organlarda gerçekleştiği gösterilmiştir. Şaşırtıcı olarak bu dönüşüm karaciğerde gözlenmemiştir ve serumda işaretili MK - 4 molekülüne rastlanmamıştır (Al Rajabi ve ark., 2012).

Bağırsak bakterileri tarafından K2 vitamini sentezlenebilmektedir. Bu bakterilerin bu vitaminleri sentezlemeleri elektron taşıma yollarında K2 vitaminini kullanmasından ileri gelmektedir. Fakat her bakteri farklı uzunlukta yan zincir ekleyerek farklı tip K2 vitamini sentezlemektedir (Collins ve Jones, 1981). Örneğin propionobakteriler ön planda MK - 9 sentezlerken, Lactococcus lactis ssp. lactis MK - 8 üretir (Morishita ve ark., 1999). Fakat bakteriler tarafından üretilen MK'ların emilim düzeyi hala

belirsizliğini korumaktadır. Tüm K vitamini formlarının emilimi için safra tuzları gerekmektedir. Fakat MK'ların çoğunun üretildiği bakterilerin bulunduğu yer olan kolonda safra tuzu bulunmadığı için emilimin az olduğu düşünülmektedir (Conly ve Stein, 1992).

K2 vitamini atılımı konusunda yapılan çalışmalar ise MK - 4'ün safra ile atıldığını ve K1 vitaminine göre bu işlemin daha hızlı olduğu bildirilmiştir (Konishi ve ark., 1973). Aynı zamanda K1 vitaminin vücutta belirli miktarda MK - 4'e çevrileceğini bilmek önemlidir (Okano ve ark., 2008).

2.3.2. K2 vitamini kaynakları

Normal bir diyetle alınan K vitaminin yaklaşık % 90'ını K1 vitamini oluşturmaktadır. Fakat K1'in düşük emilimi dikkate alındığında total emilenin % 50'si vitamin K1'dir. %50'si ise MK - 4 başta olmak üzere MK - 7, MK - 9, MK - 10 gibi diğer MK'lar tarafından oluşturulur (Akbulut ve ark., 2020; Schurgers ve Vermeer, 2000). Yaşla birlikte emilim kapasitesinin azalması ile K vitamini eksikliği daha fazla gözlenmektedir (Theuwissen ve ark., 2014). Takviye amaçlı en çok kullanılan K2 vitamini formları MK - 4 ve MK - 7'dir. K2 vitamini bitkilerde bulunmaz. Geniş bir bakteri grubu tarafından sentezlenir. Hayvanların ve insanların intestinal bakterileri tarafından diğer K vitaminlerinden sentezlenebilir (Suzuki ve Okamoto, 1997). MK - 4 daha çok yumurta sarısı, kefir ve tereyağında bulunurken, MK - 7 bazı fermente gıdalarda (özellikle Japonların özel bir yemeği olan Natto yemeğinde) ve peynirde bulunur (Schurgers ve ark., 2007). Uzun zincirli MK - 10 ve MK - 13 gibi moleküller ise kolon bakterileri tarafından sentezlenebilir (Manoury ve ark., 2013; Maresz, 2015). Özellikle çiftlik hayvanlarının etlerinde belirli düzeyde K2 vitamini bulunabilir. Bunun sebebi hayvan yemlerine belirli miktarda menadion yani K3 vitamini eklenmesidir (Vermeer ve ark., 2018). Japonların yöresel yemeği olan nattoda MK - 7 oranı daha yüksek olduğu için özellikle absorpsiyon konusundaki çalışmalarda MK - 7'nin daha fazla çalışıldığı göze çarpmaktadır (Du ve ark., 2023; Knapen ve ark., 2014). Klasik batı tipi diyetle ve hazır yiyeceklerde K2 vitamini oranı ise belirgin miktarda düşüktür. Bu nedenle bu toplumlarda ek takviye kullanımı gerekebilmektedir (Theuwissen ve ark., 2014).

Var olan kanıtlar K2 vitaminin önerilen günlük alım dozu (RDI) konusunda fikir birliği olmadığı yönündedir. Sonuç olarak Japonya’da sıklıkla tüketilen Natto gibi yoğun K2 vitamini içeren yiyecekleri günlük diyet programında olmayan ülkelerde K2 vitamini yeterli düzeyde alınamamaktadır (Beulens ve ark., 2013; Marles ve ark., 2017). K2 vitamini konusunda en çok araştırmanın yapıldığı ve sıklıkla kullanıldığı Japonya’da osteoporotik kadınlarda günlük 45 mg (günde 3 kez alınan 15 mg) doz önerisinde bulunulmuştur. Burada belirtilen doz MK – 4 kullanımı içindir (Asakura ve ark., 2001). Yapılan çalışmalarda ise 10 µg MK – 7’den 135 mg MK - 4’e kadar değişen dozlarda kullanımlardan bahsedilmektedir (Iwamoto ve ark., 2006; Kojima ve ark., 2020; Theuwissen ve ark., 2013).

2.3.3. K2 vitamini fonksiyonları ve etki mekanizması

K vitamin grubu genel olarak hepatik ve ekstrahepatik dokularda proteinlere bağlı glutamat kalıntılarının karboksilasyon reaksiyonu ile gama - karboksiglutamat (Gla) molekülüne dönüşümünden sorumludurlar. Bunu sağlayan enzim gama glutamil karboksilaz enzimidir (Rishavy ve Berkner, 2012). En çok bilinen Gla içeren proteinler faktör 2,7,9,10, Protein C, Protein S, OC ve MGP’dir (Dowd ve ark., 1995). Ekstrahepatik dokularda bulunan MGP ve OC’nin kalsiyum homeostazisi ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Wasilewski ve ark., 2019). K2 vitamini özellikle kemik yapım markerı olan OC’nin karboksilasyonunu sağlayarak osteoblastik aktiviteye katkıda bulunur. Aynı zamanda kıkırdak ve kan damarı duvarında sentezlenen MGP’yi karboksile ederek kalsiyumun damar duvarında birikmesini önleyici etkisi vardır (Flore ve ark., 2013). Ek olarak kollajenin çapraz bağlanmalarını düzenleyici etkisi vardır (Saito, 2009). K2 vitamini eksikliğinde karboksilasyon işlemini tamamlayamamış yani unkarboksile MGP, unkarboksile OC ve K vitamin eksikliği ilişkili protein (PIVKA) oluşumu artar. Bu moleküllerin serum düzeyi bakılarak kandaki K2 vitamini eksikliği dolaylı yoldan tespit edilebilmektedir (Iwamoto ve ark., 2009; Sokoll ve Sadowski, 1996). K vitamin takviyesi ile yükselen bu değerlerin, azaldığı gösterilmiştir. Aslında bu değerlerin istenen aralığa getirilebilmesi yeterli miktarda K vitamini alındığını da düşündürmektedir (Aoun ve ark., 2017; Caluwé ve ark., 2014).

OC kemikte en çok bulunan non - kollajen proteindir (Hauschka ve ark., 1975). Kandan alınan kalsiyumun kemik dokuya bağlanmasına yardımcı olan bir moleküldür ve osteoblastlar tarafından üretilir. Kemiğin en önemli mineral bileşeni olan hidroksiapatite kalsiyumun sıkıca bağlanmasını sağlar. Bu sayede kemik dokuda ciddi bir stabilite oluşturur (Komori, 2020). Fakat yeni yapılan OC aktive değildir. Aktive olabilmesi için karboksile edilmesi gerekir. İşte bu karboksilasyonun sağlanması için gerekli en temel vitamin K vitaminidir (Myneni ve Mezey, 2017). Fillokinon ile MK - 7'nin karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmada MK - 7'nin bu karboksilasyonda çok daha etkili olduğu gösterilmiştir (Schurgers ve ark., 2007). Glukokortikoid kullanımında dahi Vitamin K2 osteoblastlar üzerinde osteoprotektif etki göstermektedir (Iwamoto ve ark., 2010). K2 vitamini osteoblast aktivasyonunun yanı sıra osteoblast apoptoz indüklenmesini inhibe etmekte ve osteojenik gen ekspresyonunu artırmaktadır (Akbari ve Rasouli - Ghahroudi, 2018; Koshihara ve ark., 2003). Yapılan hayvan çalışmalarında OC'nin glukoz metabolizmasında da rolü olduğunu ve OC sentezi inhibe edilen farelerde yüksek kan glukozu, düşük insülin düzeyi, azalmış insülin duyarlılığı gözlemlendiğini tespit etmişlerdir (N. K. Lee ve ark., 2007; Yoshizawa ve ark., 2009). Yine başka bir hayvan çalışmasında OC sentezi inhibe edilen farelerde testis boyutlarının küçüldüğü, testosteron sentezinin azaldığı ve buna bağlı olarak kas kütlelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Oury ve ark., 2013).

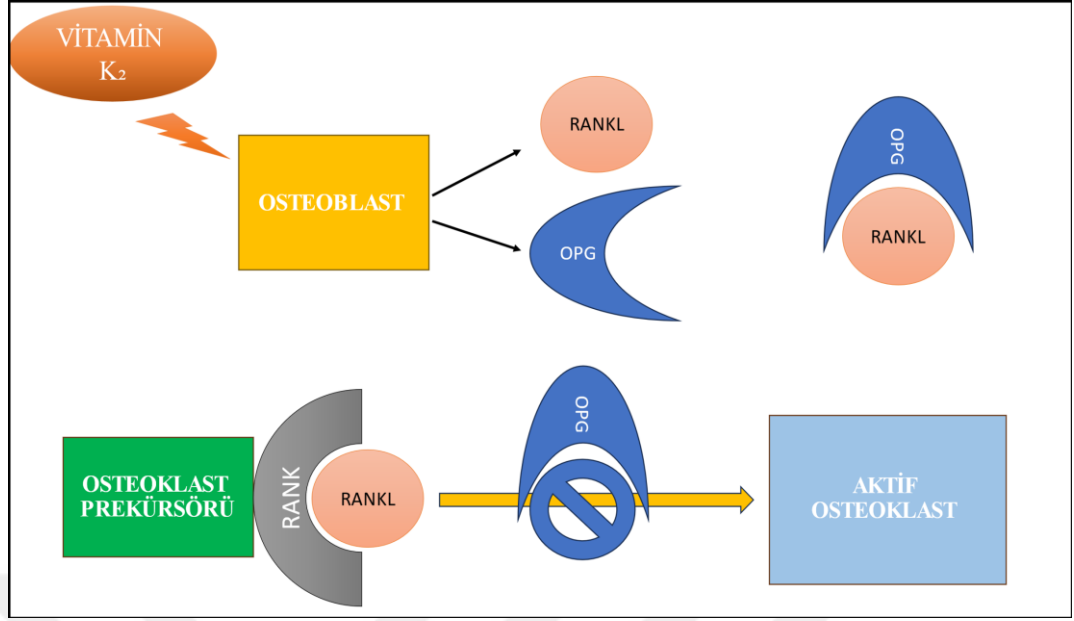
MGP'nin temel görevi dokularda kalsiyumun fazla birikimini önlemektir. Vücuttaki en etkili doğal kalsiyum inhibitörüdür (Akbari ve Rasouli - Ghahroudi, 2018). Yetersiz kalsiyum alımı kemik mineral yoğunluğunda azalma ile sonuçlanmaktadır. Kemik kırılabilirliğinin azaltılabilmesi için kalsiyumunun etkin miktarda alınması gerekmektedir. Fakat kanıtlar göstermiştir ki yüksek kalsiyum takviyesi kan damar duvarında ve yumuşak dokularda kalsifikasyona yol açabilmektedir (Bolland ve ark., 2010; Michaëlsson ve ark., 2013). Yeterli miktarda K2 vitamini alımının MGP aktivasyonunu sağlayarak kalsiyumun istenmeyen yan etkisi olan vasküler kalsifikasyonu azalttığı gösterilmiştir (Beulens ve ark., 2009). Her ne kadar K1 vitamini de MGP'yi aktive edebilse de pıhtılaşma faktörlerini aktive etmek amacıyla daha çok karaciğere yönelir. Bu nedenle MGP'nin etkili dozda aktive edilebilmesi için vücutta yeterli miktarda K2 vitamini bulunmalıdır (Berkner ve Runge, 2004).

Vücuttaki unkarboksile MGP düzeyinin kardiyovasküler hastalık riski ve mortalite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Griffin ve ark., 2019; Wei ve ark., 2016).

K2 vitamininin vasküler kalsifikasyonu inhibe edici etkisi sadece MGP üzerinden değil aynı zamanda fibroblast ve osteoblastlardan sentezlenen Growth Arrest Spesific 6 (Gas6) molekülünü aktive edici etkisi ile de olmaktadır (Qiu ve ark., 2017).

NF – KB aracılığıyla osteoklastın devamlılığı ve fonksiyonu yerine getirilmektedir (Vaira ve ark., 2008). NF - KB'nin farmakolojik olarak inhibe edilmesinin kemik oluşumunu uyarak kemik kütlesini artırdığı ve kemik kaybını azalttığı öne sürülmüştür (Y. Li ve ark., 2007). 2010 yılında yapılan bir çalışmada K2 vitaminin hem anti - rezorptif hem de anabolik etkilerinin NF – KB inhibisyonu üzerinden olabileceğini öne süren bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada MK - 4 ve MK - 7'nin hem basal hem de TNF tarafından indüklenen NF – KB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Fakat MK - 7'de aynı etki 10 kat daha yüksek saptanmıştır (Yamaguchi ve Weitzmann, 2011). Aynı yolak etkisiyle vitamin K2'nin hepatoselüler karsinom (HCC) proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Ozaki ve ark., 2007). NF – KB yolağının K2 vitamini ile ilişkisi konusunda detaylı çalışmalar yapıldıkça, kliniğe katkısı daha net aydınlatılacaktır.

Osteoblastlar hem OPG hem de NF – KB ligandı (RANKL) moleküllerini sentezler. RANKL osteoklast prekürsörlerini aktive etmekten sorumlu moleküldür. OPG ise RANKL ile birleştiği zaman osteoklastın aktiflenmesini inhibe eder. K2 vitamini aracılığıyla osteoblastlar aktive olarak OPG salgılanması artar ve aktif osteoklast sayısı azalır (Jadhav ve ark., 2022; Koshihara ve ark., 2003) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Vitamin K2'nin osteoblast aktivasyonu yoluyla OPG sentezini artırması ve aktif osteoklast oluşumunun inhibisyonu

Vitamin K2'nin osteoklastogenez inhibisyonu ve kemik yıkımını azaltıcı etki mekanizması konusundaki diğer çalışmalarda ise;

- RANKL reseptör aktivatörünün ekspresyonunu azaltarak (Yamaguchi ve Weitzmann, 2011),
- PG - E2 aktivasyonunun azaltarak (Hara ve ark., 1995),
- IL - 1 α 'yı azaltarak (Akbari ve Rasouli - Ghahroudi, 2018),
- IL - 6 aktivasyonu azaltarak etkilediği gösterilmiştir (H. Wang ve ark., 2022).

Bunların dışında osteoblastik hücrelerin diferansiyasyonu ve aktivasyonunda etkili olan Tenascin C ve kemik morfojenik protein 2 (BMP 2) genlerinin upregülasyonu MK - 7 etkisi ile sağlanmaktadır (Jadhav ve ark., 2022; Katsuyama ve ark., 2007).

2.3.4. K2 vitamini ile ilişkili hastalıklar

2.3.4.1. K2 vitamini ve osteoporoz

K2 vitamininin üzerine en çok çalışıldığı hastalık osteoporozdur. Hem antirezorptif hem de anabolik etkisinin olduğu ifade edilmektedir (Yamaguchi ve ark., 2001; Yamaguchi ve Ma, 2001). Bu çalışmalar ışığında özellikle Japonya'da osteoporozun

rutin tedavisinde yer almaktadır (Orimo ve ark., 2012). MK – 4 takviyesi ile lomber kemik mineral yoğunluğu (KMY) artmakta ve osteoporotik kırık riski azalmaktadır. Fakat MK - 4'ün kırık azaltıcı etkisinin KMY'yi artırmasının dışında başka etki mekanizmaları ile sağladığı düşünülmektedir (Cockayne ve ark., 2006; Orimo ve ark., 2012).

MK - 4'ün hücre kültürü çalışmalarında osteoblastları stimüle ettiği, osteoklastları ise inhibe ettiği gösterilmiştir (Koshihara ve ark., 2003). İnsan mezenkimal kök hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada vitamin D₃ + MK - 7'nin OC'yi indükleyerek kemik mineralizasyonu ve vaskülarizasyonuna fayda edebileceği gösterilmiştir (Gigante ve ark., 2015). Ovariectomize farelerle ilgili çalışmalarda K2 vitaminin kemik kaybını önlediği gösterilmiştir (Yamaguchi ve ark., 2003).

KMY üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda ise çelişkiler mevcuttur. Osteopenisi olan postmenopozal 119 kadının alındığı randomize, plasebo kontrollü ve çift kör bir çalışmada her iki gruba vitamin D (38 µg / gün) + kalsiyum (800 mg / gün) tedavi verilmiştir. Gruplardan birisine ek olarak MK - 7 (375 µg / gün) verilirken diğer gruba plasebo tedavisi verilmiştir. Tedaviler 3 yıl boyunca uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda MK - 7 verilen grupta unkarboksile OC düzeyi azalmıştır fakat her iki grup arasında lomber KMY arasında fark saptanmamıştır (Rønn ve ark., 2021). Yakın zamanda yapılan 16 randomize kontrollü çalışmanın incelendiği bir meta - analiz sonucunda ise vitamin K2 takviyesi ile lomber omurga KMY'nin iyileştiği ve kırık insidansının azaldığı ifade edilmiştir (Ma ve ark., 2022).

Glukokortikoid tarafından indüklenen osteoporoz ve osteonekroz üzerine K2 vitamininin etkisinin incelendiği bir çalışmada, glukokortikoid tarafından inhibe edilen Runt ilişkili transkripsiyon faktörü (Runx2), Alkalen Fosfataz (ALP) ve OC'nin K2 vitamini uygulaması sonrasında arttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak K2 vitamininin osteoporozun kemik üzerine olan negatif etkilerini inhibe edebileceği gösterilmiştir (Y. L. Zhang ve ark., 2017). Yine yapılan hayvan çalışmalarında glukokortikoid ile indüklenen osteoporoz modelinde K2 vitamini ile kemik rezorpsiyonunun önüne geçilebilmiştir (Iwamoto ve ark., 2008).

2.3.4.2. K2 vitamini ve kardiyovasküler hastalıklar

K2 vitamini eksikliğinde vasküler kalsifikasyon artışı ile kardiyovasküler hastalık oluşumuna yol açabileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda bu durumun azalan yaşam beklentisi ile ilişkili olduğu raporlanmıştır (Beulens ve ark., 2009; Gast ve ark., 2009). Yüksek kardiyovasküler risk faktörü bulunan bireylerde artmış miktarda unkarboksile MGP düzeyleri gözlenmiştir (Heuvel ve ark., 2014). 55 yaş üzeri toplam 4807 sağlıklı denek üzerinde yapılan bir çalışmada günde en az 32 µg K2 vitamini alımı ile kardiyovasküler hastalığa bağlı ölümlerde % 50, tüm nedenlere bağlı ölümlerde % 25 azalma saptanmıştır (Geleijnse ve ark., 2004). Postmenopozal 564 kadın üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise K2 vitamini kullanımı ile koroner kalsifikasyon riski azalırken tek başına K1 vitamini ile aynı fayda sağlanamamıştır (Beulens ve ark., 2009).

K2 vitamin takviyesinin vasküler sağlık belirteçlerinden biri olan karotis - femoral nabız dalga hızı (cfPWV) üzerine etkisinin değerlendirildiği prospektif çalışmada kontrol grubuna göre anlamlı miktarda fayda sağlanmıştır. Bu faydanın özellikle unkarboksile MGP miktarı görece yüksek olan kişilerde daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (Vermeer ve Vik, 2020).

2.3.4.3. K2 vitamini ve malignite

Malignitelerden özellikle HCC üzerine birçok hücre kültürü çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalarda genellikle hücrelerin çoğalmasını ve büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Ide ve ark., 2009; Kanamori ve ark., 2007; Kaneda ve ark., 2008; L. Li ve ark., 2010). HCC'si olan Japon bir kadın hastada MK - 4 ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) inhibitörü kombinasyonu uygulanmıştır. Hastalık sürecinde karaciğerde gelişen displastik nodülün, 15 aylık kombine tedavi sonrasında tamamen gerilediği gözlenmiştir. Aynı zamanda alfa - fetoprotein düzeyinde anlamlı azalma olduğu saptanmıştır (Yoshiji ve ark., 2007).

HCC haricinde miyelodisplastik sendrom, akut miyeloid lösemi, akciğer kanseri, over kanseri, pankreas kanseri ve kolorektal kanser üzerine antikanser özellik gösterebileceği düşünülmektedir (Kawakita ve ark., 2009; Xv ve ark., 2018; Yokoyama ve ark., 2008).

2.3.4.4. K2 vitamini ve periferik nöropati

Periferik nöropati periferden omuriliğe ya da beyne giden duyuşal sinyallerin somatosensöriyel sinir sisteminin bir lezyonu veya hastalığı tarafından defektif iletiminden kaynaklanan bir hastalıktır. K2 vitamininin periferik nöropatiye etkisinin incelendiğı bir çalışmaya B12 eksikliğine ya da DM'ye bağı periferik nöropati bulguları olan 30 hasta dahil edilmiştir. Hastalara 8 hafta boyunca günde 2 kez 100 µg MK - 7 verilmiş ve hastaların başlangıç ve çalışma sonunda semptomları ve ağrı skorları kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda hastaların özellikle karıncalanma, uyuşma şikayeti ve ağrı skorlarında anlamlı düzeltilmeler saptanmıştır (Kulkarni ve ark., 2013). Bu çalışmadan sonra daha geniş hasta grubuyla yapılan bir çalışma ile ve plasebo kontrollü randomize kontrollü çalışmalar ile aynı endikasyonda MK - 7'nin etkisi incelenmiştir. Çalışmaların sonucunda DM ve B12 eksikliğine bağı periferik nöropatide MK - 7 tedavisi etkili ve güvenli bulunmuştur (Badmaev, 2021; Bhave ve ark., 2019; Mehta ve ark., 2018). Vitamin K2'nin periferik nöropatideki yararlı etkisinin Gas6 aktivasyonu ile IL - 1β, IL - 6 ve TNF - α gibi proinflatuar sitokinlerin de inhibisyonu aracılığıyla olabileceğı düşünölmektedir (Goudarzi ve ark., 2016; Q. Y. Li ve ark., 2017; Vaidya ve ark., 2022).

2.3.4.5. K2 vitamini ve diğler ilişkili hastalıklar

Hemodiyaliz hastalarında K vitamini eksikliği bilinmektedir. Bu durum vasköler kalsifikasyon ve kemik kırılabilirliğinde artış ile ilişkilendirilmiştir (Fusaro, D'Angelo, ve ark., 2012; Fusaro, Noale, ve ark., 2012). Hemodiyaliz hastalarında vitamin K2 takviyesi ile kırık riski ve vasköler kalsifikasyon oluşumunda azalma gözlenmiştir (Oikonomaki ve ark., 2019; Westenfeld ve ark., 2012).

K2 vitamini eksikliğinde insölin direncinin arttığı ve tip 2 DM'ye neden olduğı yönünde çalışmalar mevcuttur. K2 vitamini takviyesi ile bu riskin azaltılabileceğini gösteren yayınlar da vardır (Manna ve Kalita, 2016).

Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında vitamin K2'nin amiloid β peptidleri tarafından indöklenen Kaspaz - 3 aracılı apoptozu inhibe edebildiğı gözlenmiştir. Bunun sonucu olarak β amiloid birikimini azaltarak nöral yapıları toksisiteye karşı koruyabileceğı önerilmiştir (S. H. Huang ve ark., 2021). Aynı zamanda reaktif oksijen türleri

oluşumunu azaltarak antiapoptotik ve antioksidan etkisinden dolayı Alzheimer hastalığının ilerlemesine karşı koruyucu olabileceği düşünülmüştür (Hadipour ve ark., 2020). Yine başka bir hücre kültürü çalışmasında uyarılmış mitokondrial disfonksiyonu inhibe ederek Parkinson hastalığı tedavisinde bir ışık olabileceği düşünülmektedir (Tang ve ark., 2022). MK - 7'nin hipoksik astrositlerde Adenozin Trifosfat (ATP) oluşumunu artırabileceği ve pro-inflamatuar sitokinler olan TNF – α ve IL - 6'yı azaltabileceği de gösterilmiştir (Yang ve ark., 2020).

2.3.5. K2 vitamininin osteoartrit ile ilişkisi

K vitamin eksikliğinin OA ile ilişkisi birçok çalışma ile gösterilmiştir. Subklinik K vitamin eksikliği olan hastaların, yeterli miktarda K vitamini alan hastalarla karşılaştırıldığı uzun dönem bir çalışmada diz OA'sı ve kıkırdak lezyonlarının K vitamin eksikliği olan hastalarda arttığı gözlenmiştir (Misra ve ark., 2013). İleri yaş erkek hastalar üzerinde yapılan bir başka çalışmada serum K vitamini eksikliğinin dizde menisküs hasarı ve kıkırdak kaybı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Shea ve ark., 2015). OA'ya ait özelliklerden birisi olan kaba osteofit oluşumunun da K vitamin eksikliği ile korele olduğu gösterilmiştir (Neogi ve ark., 2006).

Bu tez çalışmasında K vitamininin OA üzerine etkisinin özellikle K2 vitamini üzerinden olduğu hipotezini kurarak oral K2 vitamini desteğinin antiosteoartritik etkisinin olup olmadığını gözlemlemeyi amaçladık. Bu hipotezin kaynağı, K vitaminin kemik metabolizması üzerine temel etkisinin K2 vitamini üzerinden olduğunun son yıllarda ortaya çıkmasından ileri gelmektedir. Bunu destekleyen bir başka çalışmada ileri evre OA hastalarında tedavi amacıyla yapılan total diz artroplastisi operasyonu ile çıkarılan kemik dokularında femur ve tibianın medial ve lateral kondillerindeki K2 vitamini düzeyleri kromatografi aracılığıyla incelenmiştir. Hem femurda hem tibiada medial tarafta K2 vitamini düzeyi lateral tarafa göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç klinik olarak da gözlemlenen OA sürecinin medial tarafta daha fazla olması bilgisiyle uyushmaktadır (Ishii ve ark., 2013b).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı İçin Etik Kurul Onayı Alınması

Bu çalışma T. C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 12/01/2022 tarih ve 06 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

3.2. Çalışmanın Yürütülmesi İçin Finansal Desteğin Sağlanması

Bu çalışma T. C. Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından 2022 – 7 – 25 - 9 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.3. Çalışmaya Alınacak Hayvan Sayısının Belirlenmesi

Her grup için çalışmaya alınacak hayvan sayısını belirleyebilmek için G - Power programı kullanılmıştır (Faul ve ark., 2007). Analiz literatür temelli olarak ele alınmış ve aşağıdaki sonuca ulaşılmıştır (He ve ark., 2020).

F tests - ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way

Analysis:

A priori: Compute required sample size

Input:

Effect size $f = 0,90$

α err prob = 0,05

Power ($1 - \beta$ err prob) = 0,95

Number of groups = 3

Output:

Noncentrality parameter $\lambda = 19,4400000$

Critical F = 3,4668001

Numerator df = 2

Denominator df = 21

Total sample size = 24

Actual power = 0,9643907

Bu hesaplamalar sonucunda araştırma için toplam 24 rat (8'i sham grubu, 8'i kontrol grubu, 8'i tedavi grubu) alınması planlandı.

3.4. Ratların Seçimi ve Gruplara Ayrılması

14 haftalık (250-330 gr) 24 adet Sprague Dawley (SD) erkek ratlar çalışma için alınmıştır. Ratlar T. C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi (SÜDETAM) bünyesinden elde edilmiştir. OA modeli oluşturmak için Monosodyum Iodoasetat (MIA) ürünü Sigma Aldrich'ten (Schnelldorf, Germany) elde edilmiştir. OA modeli oluşturulacak ratların sağ diz femorotibial eklem içerisine intraartiküler MIA enjeksiyonu uygulanması planlanmıştır (Bryden ve ark., 2015; Marker ve Pomonis, 2012). Bu amaçla ratlar 3 gruba ayrılmıştır:

1. Sham grubu: 8 adet SD cinsi rat alındı. Bu grubun sağ diz femorotibial eklem içerisine 50 µL % 0,9 fizyolojik salin enjekte edilmesi planlandı. Diyet olarak standart diyet ek olarak 8 µg / gün oral salin verilmesi planlandı.

2. Kontrol grubu (OA grubu): 8 adet SD cinsi rat alındı. Bu grubun sağ diz femorotibial eklem içerisine 3 mg MIA, 50 µL % 0,9 fizyolojik salin içerisinde sulandırılarak enjekte edilmesi planlandı. Diyet olarak standart diyet ek olarak 8 µg / gün oral salin verilmesi planlandı.

3. Tedavi grubu (OA + oral K2 vitamini grubu): 8 adet SD cinsi rat alındı. Bu grubun sağ diz femorotibial eklem içerisine 3 mg MIA, 50 µL % 0,9 fizyolojik salin içerisinde sulandırılarak enjekte edilmesi planlandı. Diyet olarak standart diyet ek olarak 8 µg / gün K2 verilmesi planlandı.

3.5. Rat Osteoartrit Modeli Oluşturulması

Anestezi uygulaması için medetomidin 0,30 mg / kg dozda ve ketamin 60 mg / kg dozda intraperitoneal yolla uygulandı. Anestezi sonrasında ratların sağ dizleri tıraş

makinası ile tıraşlandı. Sonrasında ratların sağ dizleri antiseptik solüsyon ile temizlendi ve steril örtü ile çevrelendi. Enjeksiyon işlemlerinde 26 Gauge (G) iğne kullanıldı. Steril eldiven ile ratların sağ patellar tendonu palpe edilip tendonun medialine 26 G iğne ile girişim uygulandı (Resim 3.1.). Kontrol (OA) ve tedavi grubuna 3 mg MIA, 50 µL % 0,9 fizyolojik salin içerisinde sulandırılarak intraartiküler olarak uygulandı. Sham grubuna ise 50 µL % 0,9 fizyolojik salin intraartiküler olarak uygulandı.



Resim 3.1. Ratların sağ diz femorotibial eklemine patellar tendon medialinden intraartiküler girişim uygulanması

3.6. Ratların Bakımı ve Diyet Programı

Bu çalışma 27 Eylül 2022 – 24 Ekim 2022 tarihleri arasında SÜDETAM bünyesinde (21 ± 1 ° C) oda sıcaklığında 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık ışık periyodunda, ratların temiz suya erişimi devamlı olacak şartlarda sağlanmıştır. MIA enjeksiyonundan itibaren 0. günden itibaren çalışma boyunca sham ve kontrol (OA) grubuna standart diyet ek olarak günlük 8 µg oral salin verilirken, tedavi grubuna standart diyet ek olarak günde 8 µg K2 vitamini oral gavaj yoluyla verilmiştir. Ratların bakımı 28 gün sürdürülmüştür. Tüm ratlar çalışma öncesi ve çalışma sonrası

tartılmıştır. Ratların çalışma başlangıcı ve çalışma bitişindeki ağırlıkları Tablo 3.1.’de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Ratların çalışma başlangıcı ve çalışma bitişindeki ağırlıkları

Grup	Ağırlık (gram)	
	Başlangıç	Bitiş
Sham 1	250	312
Sham 2	262	328
Sham 3	310	382
Sham 4	266	320
Sham 5	255	325
Sham 6	297	364
Sham 7	230	318
Sham 8	278	338
Kontrol (OA) 1	291	356
Kontrol (OA) 2	297	361
Kontrol (OA) 3	286	357
Kontrol (OA) 4	244	309
Kontrol (OA) 5	233	292
Kontrol (OA) 6	286	357
Kontrol (OA) 7	258	341
Kontrol (OA) 8	243	281
Tedavi 1	292	368
Tedavi 2	252	302
Tedavi 3	263	337
Tedavi 4	303	387
Tedavi 5	225	288
Tedavi 6	251	311
Tedavi 7	257	321
Tedavi 8	304	347

3.7. Tedavi Grubuna Verilecek K2 Vitamin Dozunun Belirlenmesi

Güncel literatürde K2 vitaminin OA için kullanılmak amacıyla doz önerisi bulunmadığı için osteoporoz çalışmalarında tercih edilen dozlardan birisi olan 8 µg / gün vitamin K2 kullanımı uygun görülmüştür (Wu ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda Türkiye’de üretimi ve satışı yapılan Venatura® marka vitamin K2 kompleks damla ürünü kullanılmıştır. Bu üründe 1 damlanın % 80’inde MK - 4, % 20’sinde MK - 7 vitamini bulunmaktadır.

3.8. Ratların Sakrifikasyonu ve Sağ Diz Eklemlerinin Alınması

28 gün sonunda ratlara anestezi altında ekssanguinasyon ile ötanazi uygulanmıştır. Ötanazi sonrasında ratların sağ diz femorotibial eklemleri eksize edildi. Kemik ve eklem doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10'luk nötral formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Kemik doku örneklerine dekalsifikasyon işlemi yapılarak kalsiyum uzaklaştırıldı (Osteosoft M101728®). Dokular 48 - 72 saat boyunca dekalsifikasyon solüsyon içerisinde inkübe edilerek doku yumuşaması düzenli olarak kontrol edildi. Dekalsifikasyon işleminden emin olunduktan sonra, incelenecek dokular, doku tespit işlemine alındı. Dokular akar su altında 2 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (% 60, % 70, % 80, % 90, % 96, % 100) geçirildi. Sonrasında dokular şeffaflaştırma işlemi amacıyla ksilolden geçirildi ve ardından parafine gömüldü.

3.9. Histolojik Boyama Yöntemleri

Alınan eklem örnekleri histolojik olarak Hematoksilen - Eozin ve Safranin O boyama ile boyandı.

Hematoksilen - Eozin ile boyama için doku parafin bloklarından lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alındı. Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 60 dk bekletilerek fiziksel olarak parafinden kurtarılma işlemi yapıldı. Sonrasında 3x5 dakika ksilole alınarak kimyasal olarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (% 100, % 96, % 90, % 70) 1 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen'de 2 dakika boyandı ve 2x2 dakika akar suda yıkandılar. %1 asit - alkol - su karışımına batırılıp tekrar 1 dakika akar suda yıkandı. Lamlar 2 dakika Eozin'de bekletilip, artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (% 70, % 80, % 96, % 100), 2x1 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

Safranin O ile boyama için doku parafin bloklarından lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 60 dk bekletilerek fiziksel olarak parafinden kurtarılma işlemi yapıldı. Sonrasında 3x10 dakika ksilole alınarak kimyasal olarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (% 100, % 96, % 90, % 70) ardından 1

dakika akar suda yıkandıktan sonra, Weigert demirli Hematoksilen solüsyonunda 10 dk bekletildi. Sonrasında 10 dk distile suda yıkandı. Ardından Safranin O solüsyonunda 5 dk bekletildi ve distile suda 1 dk yıkandı. Daha sonra Fast Green Stain solüsyonunda 10 dk bekletildi. Diferansiye etmek için Asetik asit solüsyonunda 10 sn bekletildi. Ardından distile suda lamalar 1 dk yıkandı. Artan dereceli alkol serilerinden geçirilip (% 70, % 80, % 96, % 100) ardından 2x1 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı. Bu yöntemde Nova Ultra® marka IW – 3011 no'lu kit kullanılmıştır.

3.10. İmmunhistokimyasal Boyama Yöntemleri

Sakrifikasyon sonrası uygun metodlarla alınan sağ diz eklem kıkırdağı immunhistokimyasal olarak tip II kollajen alfa 1 antikoru ve MMP - 13 ile incelendi. Bunu gerçekleştirmek için doku parafin bloklarından lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra, 3x5 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip rehidrate (% 100, % 96, % 80, % 70) edildi. Kesitleri alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 1'er dakika distile sudan geçirildi. Antijen maskesini kaldırmak için 1/10 dilue Citrat Buffer (PH: 6) (AP - 9003 - 999 Thermo Fisher Scientific®) PT Modülü (A80400012 LabVision) uygulandı. İmmünhistokimya boyama cihazında (Shandon Sequenza Immunostaining Center Each 73300001 Shandon / ThermoScientific®) rack yuvalarına lamalar coverplate ile birlikte takıldı. Fosfat tamponlu salin (PBS) ile 5 dakika yıkama yapıldı. 10 dakika % 3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılan cilt dokuları endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilip tekrar PBS ile yıkandı. 10 dakika protein bloke (TA - 125 - PBQ Thermo Scientific®) işlemi uygulandı. Tip II kollajen alfa - 1 antikoru (Biorbyt® orb683078 - Dilue: 1/100) ve MMP13 antikoru (Biorbyt® orb11057 - Dilue: 1/100) ile 2 saat inkube edildi. PBS ile 5 dakika yıkama yapıldı. Primer antikor Amplifier Quanto (TL - 125 - QPB Thermo Scientific®) ile 20 dakika bekletildi. HRP Polymer Quanto (TL - 125 - QPH Thermo Scientific®) ile 30 dakika bekletildi. Her aşamada PBS ile yıkama yapıldı. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için 3,3' - Diaminobenzidine Chromogen (TA - 125 - HA Thermo Scientific®) ile boyama yapıldı. Zemin boyaması için 1 dakika süreyle Hematoksilen uygulandı. Distile su ile 2 dakika yıkandı. Lamalar artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (% 70, % 80, % 96, % 100) 2 dakika ksilole alındı ve

entellan ile kapatıldı.

3.11. Histopatolojik Verilerin Skorlanması

Histopatolojik verilerin değerlendirilmesinde Mankin skorlama sistemleri (diğer adı ile histolojik – histokimyasal evreleme sistemi) kullanılmıştır. Mankin kırıkdağ dejenerasyonunun skorlama sistemi uzun yıllardır kullanılmaktadır (Mankin ve ark., 1971). Bu sistemin OA değerlendirilmesinde geçerliliği ve güvenilirliği sağlanmıştır (Ostergaard ve ark., 1999). Mankin skorlama sistemi 0 – 14 puan arasında değer almaktadır. Mankin skoru değerlendirilmesinde kırıkdağ yapısı (0 - 6 puan), hücresel anormallikler (0 - 3 puan), matriks boyanması (0 - 4 puan) ve tidemark devamlılığı (0 - 1 puan) incelenmektedir. Toplam skurun değerlendirilmesinde 0 puan normal, 1 – 4 puan hafif, 5 – 9 puan orta, 9 - 14 puan ise şiddetli kırıkdağ lezyonunu ifade etmektedir. Mankin skorlama sisteminin değerlendirilmesi Tablo 3.2., Tablo 3.3, Tablo 3.4. ve Tablo 3.5.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Mankin skorlama sistemine göre kırıkdağ yapısının değerlendirilmesi

Kırıkdağ yapısı	SKOR
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

Tablo 3.3. Mankin sistemine göre hücresel anormalliklerin değerlendirilmesi

Hücresel anormallik	SKOR
Normal	0
Hiperselülerite, küçük yüzeyel hücre kümeleri dahil	1
Hücre kümeleri	2
Hiposelülerite	3

Tablo 3.4. Mankin sistemine göre matriks boyanmasının değerlendirilmesi

Matriks boyanması	SKOR
Normal	0
Radyal katmanda azalmış boyanma	1
Bölgesel olarak azalmış boyanma	2
Yalnızca hücre içi matrikste boyanma	3
Boyanma mevcut değil	4

Tablo 3.5. Mankin sistemine göre tidemark devamlılığının değerlendirilmesi

Tidemark devamlılığı	Skor
İntakt	0
Destrüksiyon	1

3.12. İmmunhistokimyasal Boyanma Verilerinin Değerlendirilmesi

Eklem kıkırdağında bulunan temel kollajen tip II kollajendir (M. B. Goldring, 2000). Tip II kollajeni parçalan en temel enzim ise MMP – 13’tür (Mehana ve ark., 2019). Dolayısıyla eklem kıkırdağında yapım ve yıkım sürecini belirleyen iki temel ajandır. Bu nedenle immunhistokimyasal olarak tip II kollajen alfa 1 ve MMP – 13 antikorları ile analizler tercih edilmiştir.

İmmünhistokimyasal boyama sonuçlarını değerlendirilirken, tip II kollajen alfa – 1 ve MMP - 13'ün antikorlarının değerlendirilmesi, preparatlarda boyanmanın homojen olduğu vakalarda rastgele olarak seçilen en az 3 alandaki 200 hücre X40 objektif büyütme alanında sayılarak boyanma yüzdesi belirlendi. Ayrıca hot spots alanların varlığında bu alanlar toplam skora dahil edildi (Dowsett ve ark., 2011).

Preparatlarda, boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesi kriter olarak alındı. Semi - kantitatif bir yöntemle skorelama yapıldı. Boyanma derecesi, 0 (boyanma yok), + 1 (zayıf boyanma), + 2 (orta boyanma), + 3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi. Her kesit için immunhistokimyasal boyanma skorelaması, H - Score adı verilen ve $(I \times PC)$, (I: boyanmanın derecesi, PC: her derecede boyanan hücrelerin yüzdesi) formülüyle hesaplanan bir skorelama algoritması kullanılarak yapıldı. Biz de çalışmamızda daha önce bir çalışmada rapor edilmiş bu skorelama yöntemini kullandık (Ulloa - Padilla ve ark., 2020).

3.13. İstatistiksel Analiz

Her grup için gerekli ve yeterli hayvan sayısını belirlemek için G - Power paket programı versiyon 3. 0. 10 kullanıldı (Faul ve ark., 2007). Grupların sonuç verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov Simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Kruskal - Wallis test kullanıldı. Nicel bağımsız verilerin alt analizlerinde Mann - Whitney U test kullanıldı. Nicel bağımlı verilerin analizinde Wilcoxon test kullanıldı. İstatistiksel analizlerde SPSS 28.0 programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

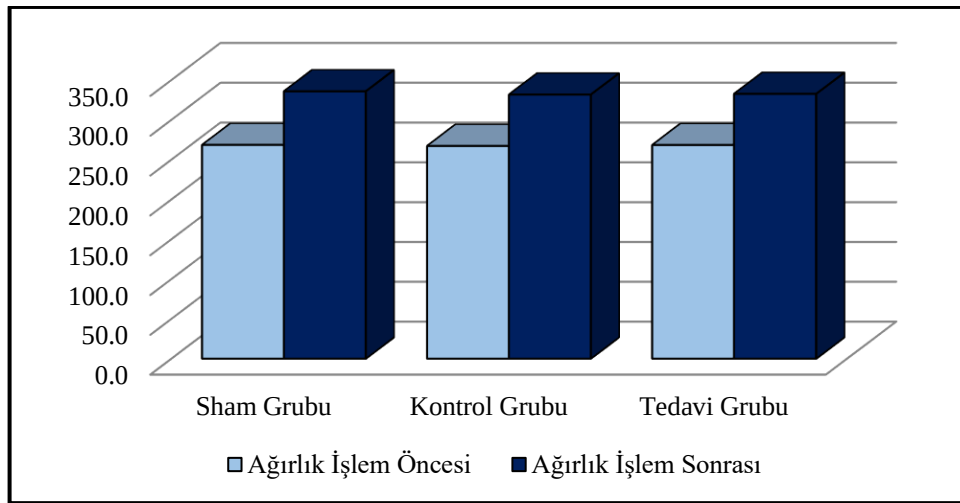
4.1. Ratların İşlem Öncesi ve İşlem Sonrası Ağırlıklarının Analizi

Sham grubu, kontrol (OA) grubu ve tedavi grupları arasında işlem öncesi ortalama ağırlık değerleri anlamlı ($p > 0,050$) farklılık göstermemiştir. Sham grubu, kontrol (OA) grubu tedavi grupları arasında işlem sonrası ortalama ağırlık değerleri anlamlı ($p > 0,050$) farklılık göstermemiştir. Sham grubu, kontrol (OA) grubu ve tedavi grupları arasında işlem öncesi ve işlem sonrası ağırlık değişimi anlamlı ($p > 0,050$) farklılık göstermemiştir (Şekil 4.1. ve Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Grupların işlem öncesi ve sonrası ağırlıklarının analizi

		Sham Grubu	Kontrol (OA) Grubu	Tedavi Grubu	P
Ağırlık					
İşlem Öncesi	Ort.±ss	268,50 ± 25,90	267,30 ± 25,50	268,40 ± 28,40	0,945 ^K
	Medyan	264,00	272,00	260,00	
İşlem Sonrası	Ort.±ss	335,90 ± 24,60	331,80 ± 32,70	332,60 ± 33,70	0,954 ^K
	Medyan	326,50	348,50	329,00	
Öncesi / sonrası değişim	Ort.±ss	67,4 ± 10,1	64,5 ± 12,9	64,3 ± 13,6	0,917 ^K
	Medyan	66,50	65,00	63,50	
Grup İçi Değişim p		0,012^w	0,012^w	0,012^w	

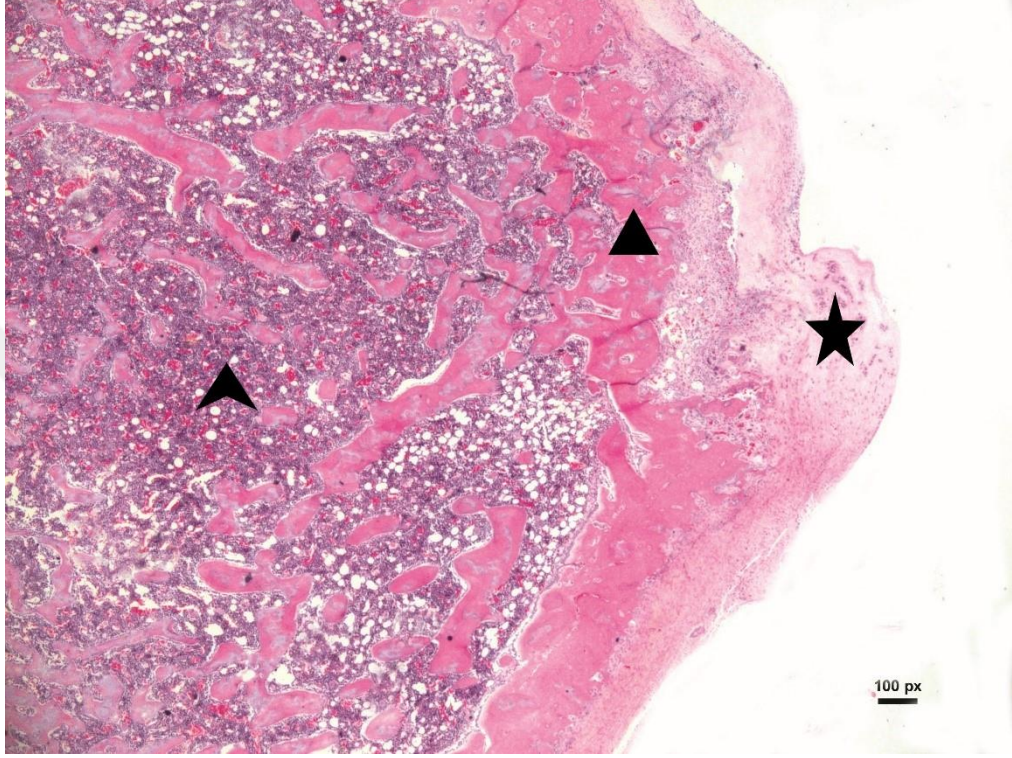
^K Kruskal – Wallis (Mann - Whitney U test), ^w Wilcoxon test



Şekil 4.1. Grupların işlem öncesi ve sonrası ağırlık ortalamalarının grafik olarak gösterimi

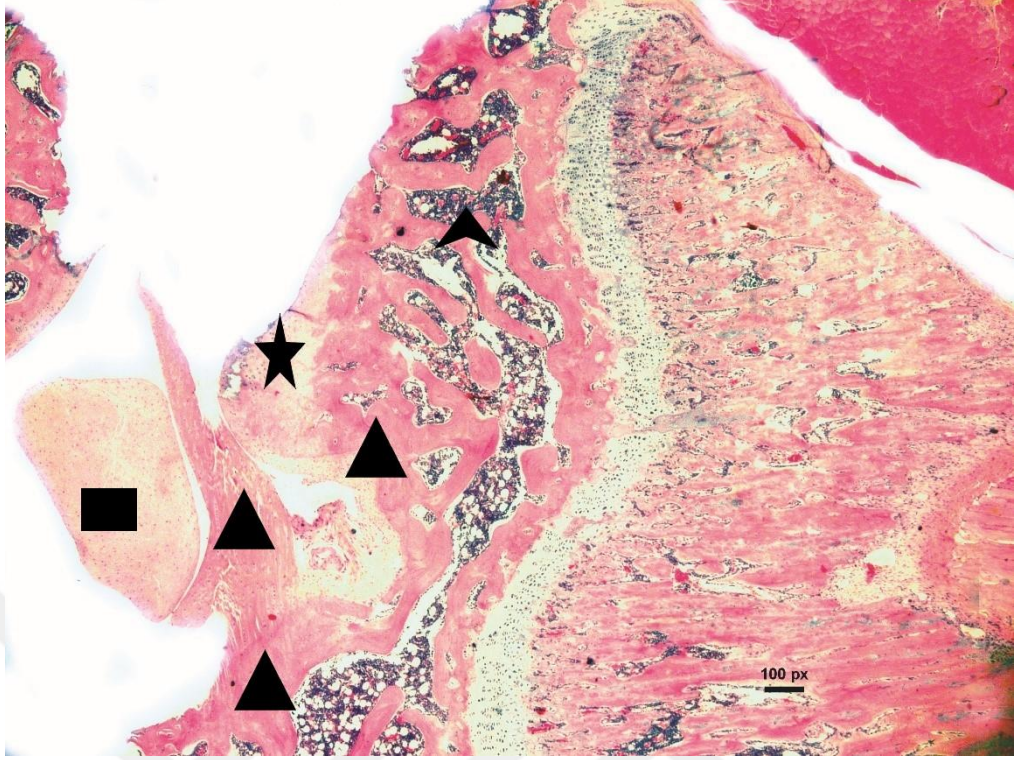
4.2. Diz Eklemlerinin Histopatolojik Verilerinin ve Mankin Skorunun Analizi

Hematoksilen – Eozin ile yapılan incelemede sham grubunda normal eklem kıkırdak yapısı görüldü. Kıkırdak doku ve hemen altında kemik doku ve kemik iliği yapıları düzenli bir şekilde yer almaktadır (Resim 4.1.).



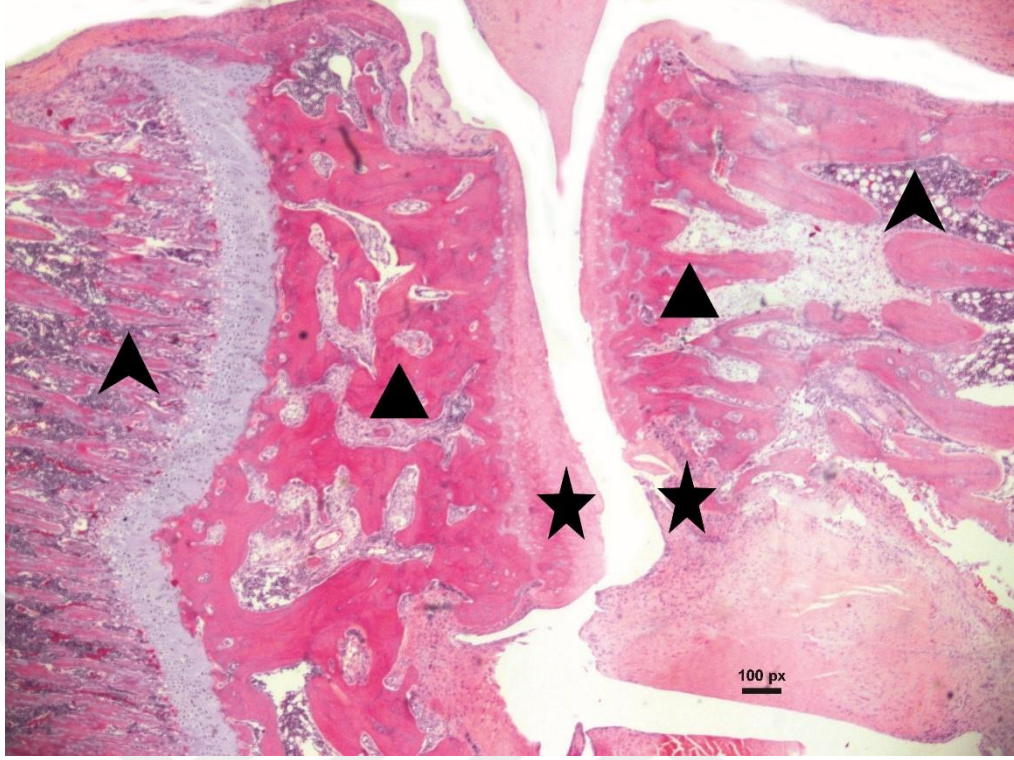
Resim 4.1. Sham grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü. (Siyah yıldız kıkırdak dokunun, siyah üçgen kemik dokunun ve siyah ok ucu kemik iliğinin bulunduğu bölgeleri göstermektedir.)

Kontrol (OA) grubunda sinovyal dokularda kalınlaşma açık bir şekilde görülmektedir. Kıkırdak dokuda sham grubuna göre daha incelmış alanlar görüldü. Kemik dokunun yoğunlaştığı kıkırdak dokunun incelendiği alanlar histolojik preparatlarda hâkim görüntüyü oluşturmaktadır. Eklem boşluğunda sinovyal doku artıkları kolaylıkla fark edilebilmektedir (Resim 4.2.).



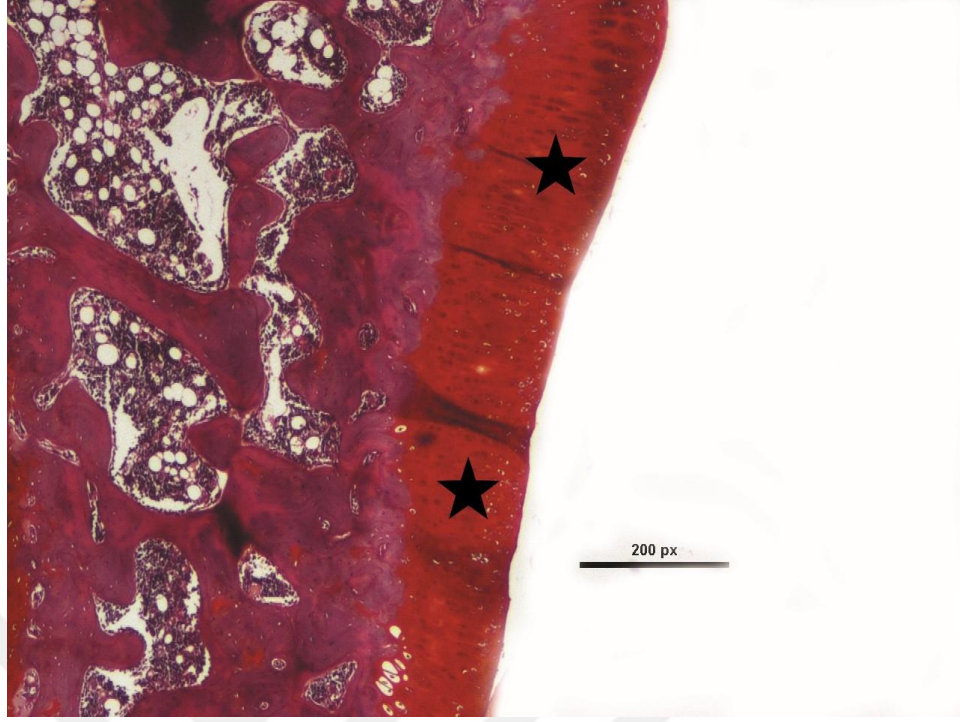
Resim 4.2. Kontrol (OA) grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü. (Siyah yıldız kıkırdak dokunun, siyah üçgen kemik dokunun ve siyah ok ucu kemik iliğinin bulunduğu bölgeleri göstermektedir. Siyah kare sinovyal alanda kalınlaşmaların olduğu bölgeleri göstermektedir.)

Tedavi grubunda normal eklem kıkırdağı ve kemik yapısına yakın histolojik alanlar görüldü. Sinovyal doku artıkları eklem boşluğunda saptanmadı. Kontrol (OA) grubuna göre bozulmuş kıkırdak alanlarının daha az olduğu ve yer yer kalınlaşmış kıkırdak doku alanlarının bulunduğu saptanmıştır (Resim 4.3.).

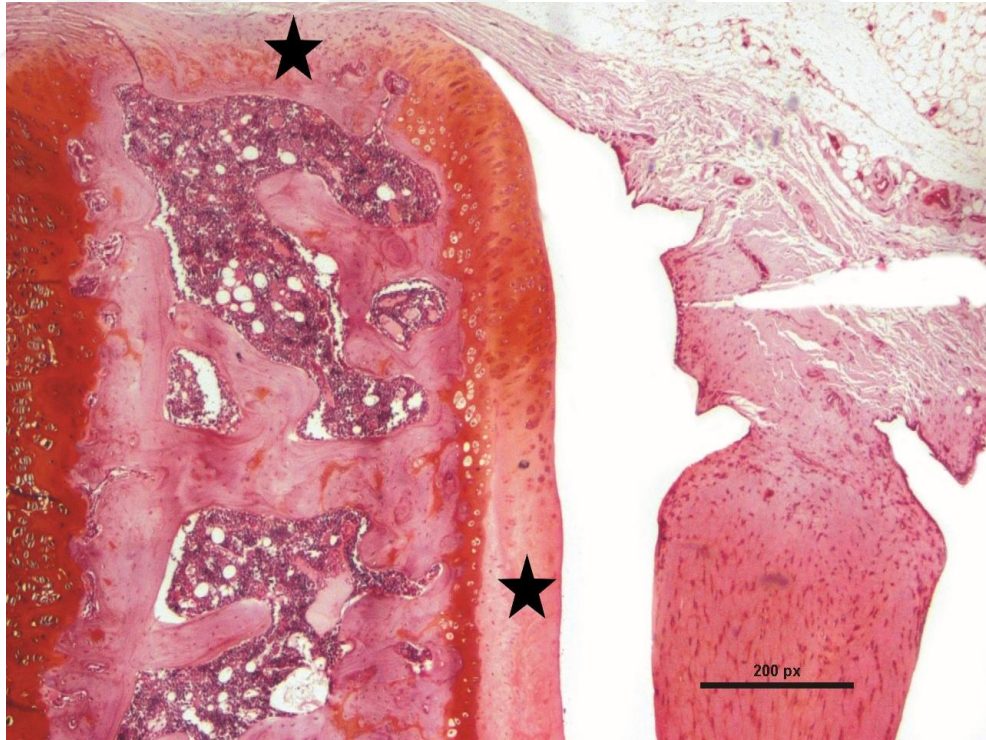


Resim 4.3. Tedavi (OA + vitamin K2) grubunun Hematoksilen – Eozin ile boyanma sonrası histolojik görüntüsü. (Siyah yıldız kırık dokunun, siyah üçgen kemik dokunun ve siyah ok ucu kemik iliğinin bulunduğu bölgeleri göstermektedir.)

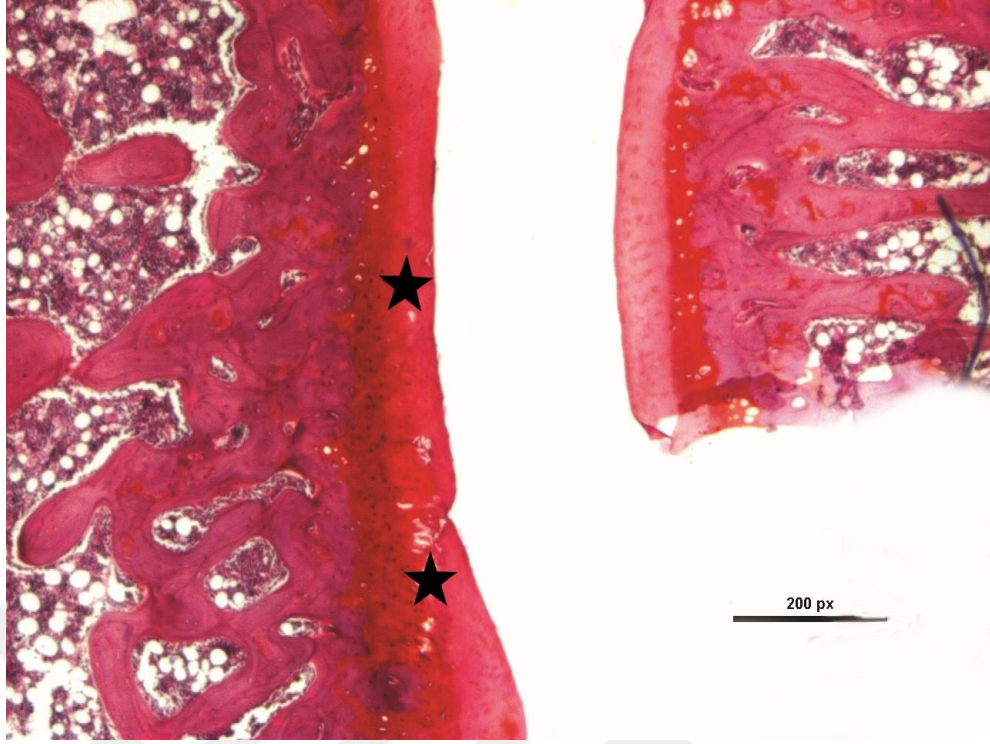
Sham grubunda kırık dokuda Safranin – O ile yoğun boyanma saptanmıştır (Resim 4.4.). Kontrol (OA) grubunda sham grubuna göre oldukça az seviyede boyanma saptanmıştır (Resim 4.5.). Tedavi grubunda ise kontrol (OA) grubuna göre daha yoğun Safranin – O ile boyanma gözlenmiştir (Resim 4.6.).



Resim 4.4. Sham grubunun Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü. (Yıldız: Kıkırdak dokusunu gösterir.)



Resim 4.5. Kontrol (OA) grubunun Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü. (Yıldız: Kıkırdak dokusunu gösterir.)



Resim 4.6. Tedavi grubunun (OA + vitamin K2) Safranin – O ile boyanmasının görüntüsü. (Yıldız: Kıkırdak dokusunu gösterir.)

Grupların Mankin skoru verileri Tablo 4.2.’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre tedavi grubu ve kontrol (OA) grubunda ortalama Mankin skoru sham grubundan anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha yüksek saptanmıştır. Tedavi grubunda ortalama Mankin skorunun kontrol (OA) grubuna göre anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3. ve Şekil 4.2.).

Tablo 4.2. Grupların Mankin skorları

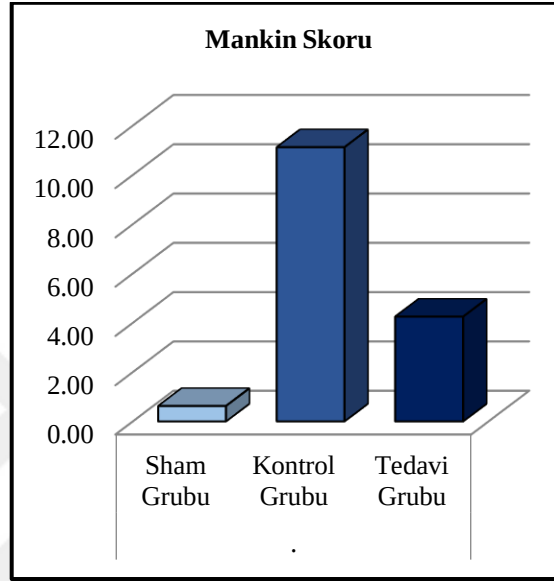
Ratların numaraları	Sham grubunun Mankin skorları	Kontrol (OA) grubunun Mankin skorları	Tedavi grubunun Mankin skorları
1	0	11	5
2	1	11	5
3	0	12	5
4	1	10	6
5	1	10	3
6	0	11	4
7	1	12	3
8	1	12	3

Tablo 4.3. Grupların ortalama Mankin skoru verilerinin analizi

		Kontrol (OA)			P
		Sham Grubu ¹	Grubu ²	Tedavi Grubu ³	
Mankin Skoru	Ort.±ss	0,63 ± 0,52	11,10 ± 0,83	4,25 ± 1,16	0,000 ^K
	Medyan	1,00 ²³	11,00	4,50 ²	

^K Kruskal - Wallis (Mann - Whitney U test), ² Kontrol (OA) grubu ile fark p < 0,050,

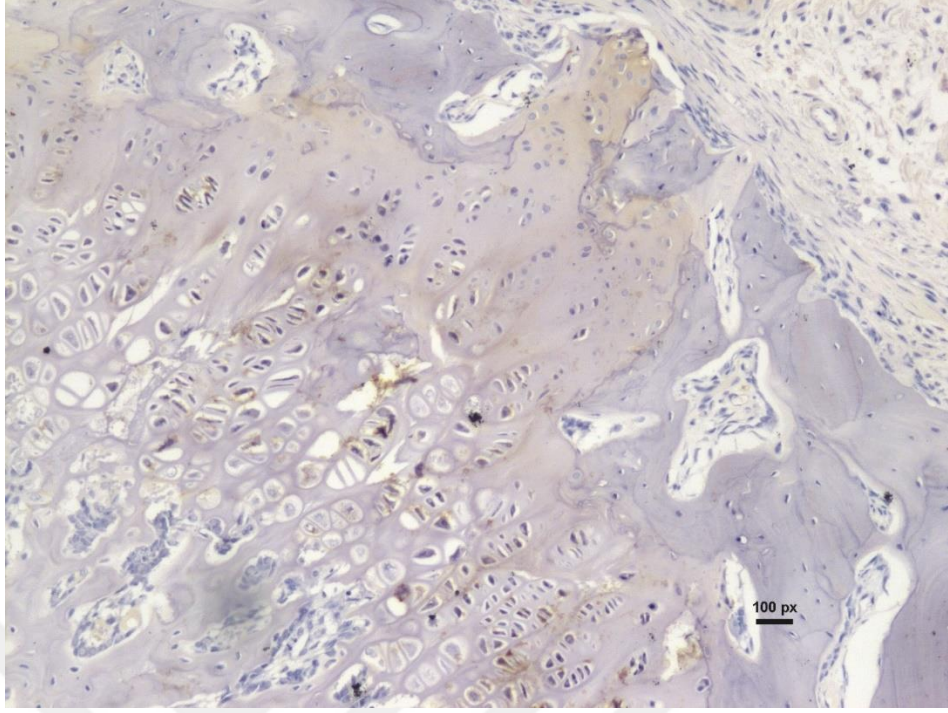
³ Tedavi grubu ile fark p < 0,050



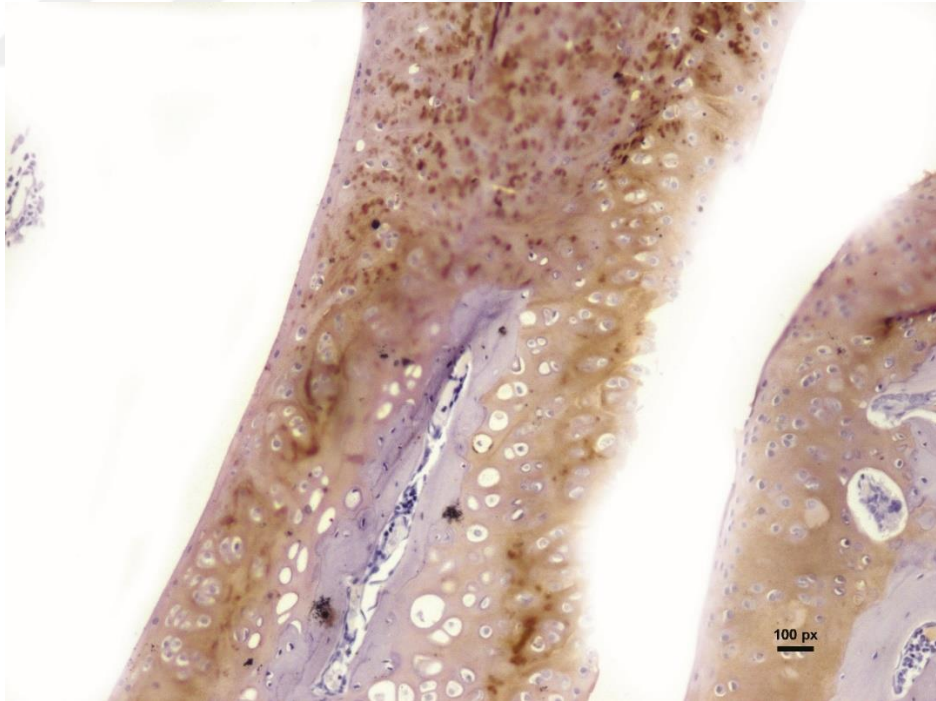
Şekil 4.2. Grupların ortalama Mankin skorlarının grafik olarak gösterimi

4.3. Diz Eklemlerinin İmmunhistokimyasal Olarak MMP - 13 ve Tip II Kollajen Alfa - 1 Antikoru ile Boyama Sonuçlarının Analizi

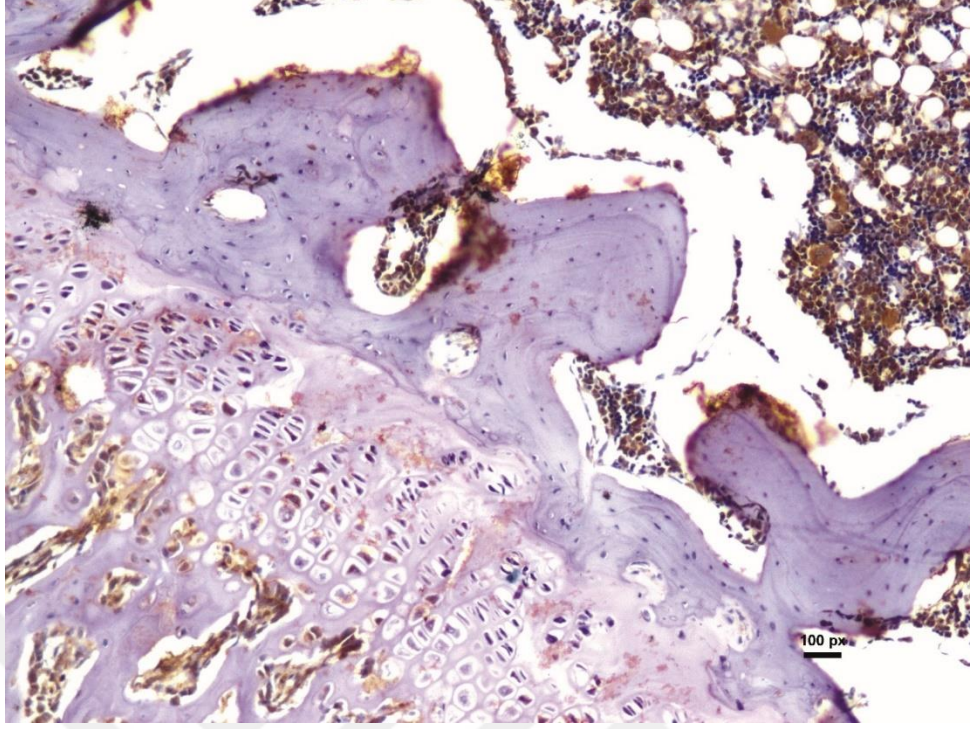
Yapılan immunhistokimyasal incelemede kontrol (OA) grubunda sham grubuna göre MMP – 13 antikoru tarafından daha yoğun boyanma gözlenmiştir. Oral K2 vitamini verilen tedavi grubunda ise kontrol (OA) grubuna göre MMP – 13 antikoru ile boyanma daha az olarak gözlenmiştir (Resim 4.7., Resim 4.8. ve Resim 4.9.). Resimlerde kahverengi renge boyanan kısımlar MMP - 13 ile boyanan bölgeleri göstermektedir.



Resim 4.7. Sham grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü

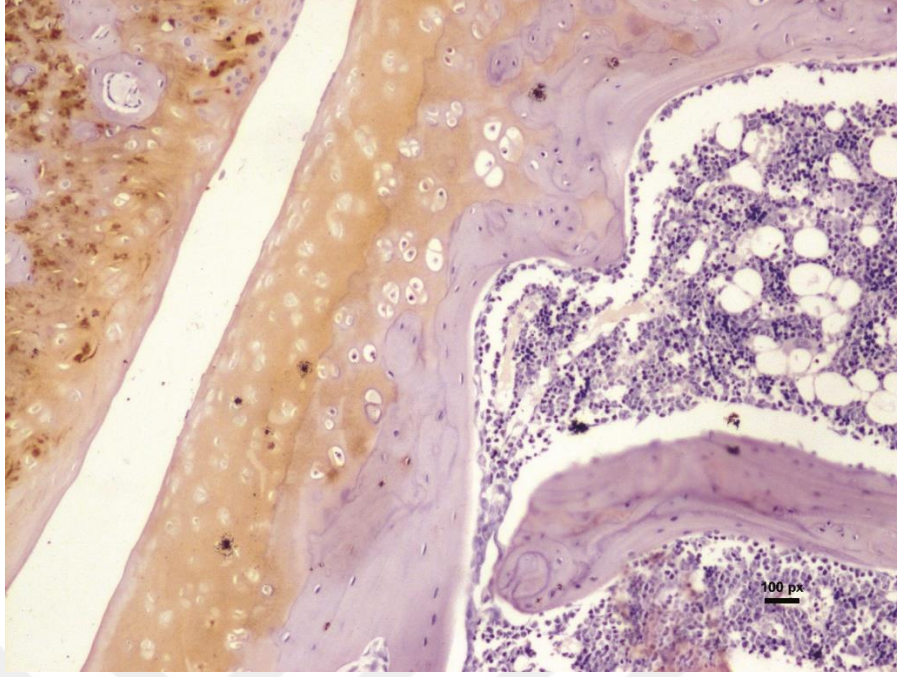


Resim 4.8. Kontrol (OA) grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü

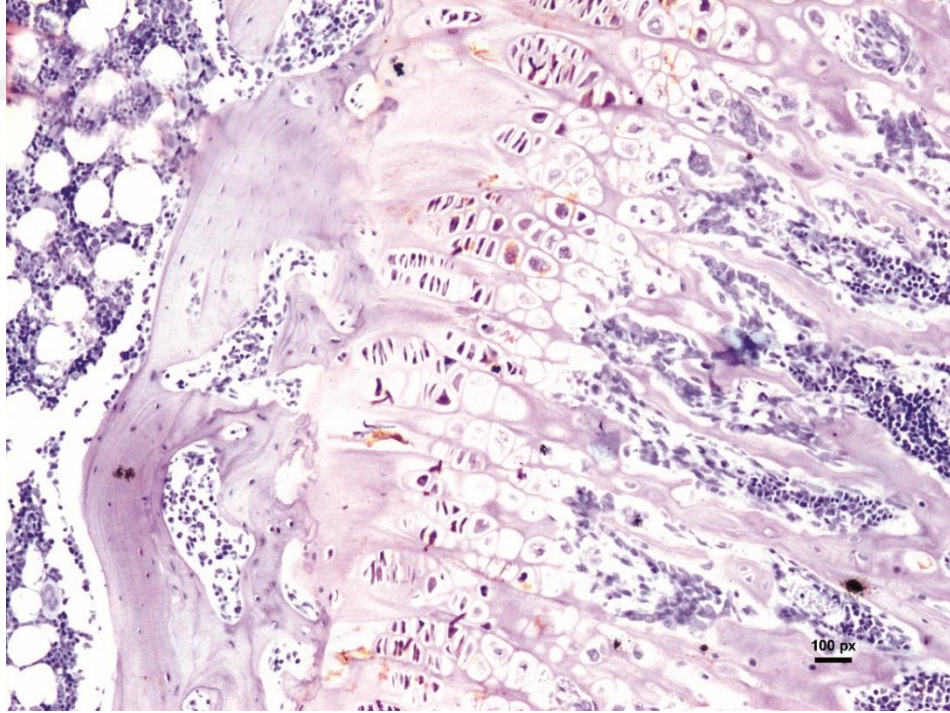


Resim 4.9. Tedavi (OA + Vitamin K2) grubunun immunhistokimyasal olarak MMP - 13 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü

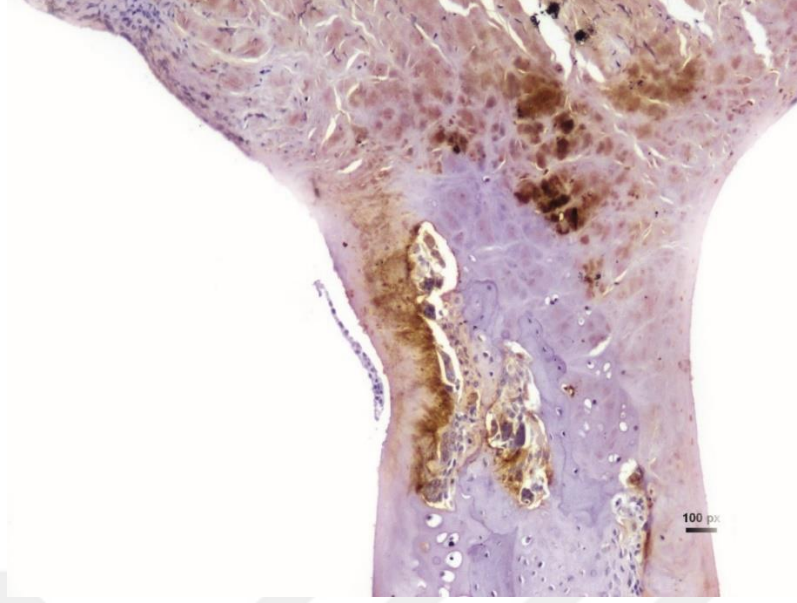
Tip II kollajen alfa 1 antikoruna ile yapılan immunhistokimyasal incelemede kontrol (OA) grubunda sham grubuna göre azalmış boyanma saptanmıştır. Oral K2 vitamini alan grupta ise boyanma daha yoğun olarak gözlenmiştir (Resim 4.10., Resim 4.11. ve Resim 4.12.). Resimlerde kahverengi renge boyanan kısımlar tip II kollajen alfa 1 antikoruna ile boyanan bölgeleri göstermektedir.



Resim 4.10. Sham grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa – 1 antikorü ile boyanmasının görüntüsü



Resim 4.11. Kontrol (OA) grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa - 1 antikorü ile boyanmasının görüntüsü



Resim 4.12. Tedavi (OA + Vitamin K2) grubunun immunhistokimyasal olarak Tip II kollajen alfa - 1 antikoruna ile boyanmasının görüntüsü

Grupların immunhistokimyasal boyama sonuçlarına göre H – Score verileri aşağıda belirtilmiştir (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Grupların immunhistokimyasal boyama sonuçlarına göre H – Score verileri

GRUPLAR	Tip II kollajen alfa - 1	MMP 13
Sham 1	60	10
Sham 2	50	10
Sham 3	65	12
Sham 4	55	15
Sham 5	55	15
Sham 6	65	10
Sham 7	60	10
Sham 8	60	10
Kontrol (OA) 1	10	70
Kontrol (OA) 2	10	70
Kontrol (OA) 3	5	75
Kontrol (OA) 4	5	70
Kontrol (OA) 5	5	70
Kontrol (OA) 6	5	75
Kontrol (OA) 7	5	70
Kontrol (OA) 8	5	70
Tedavi 1	30	35
Tedavi 2	35	45
Tedavi 3	35	30
Tedavi 4	40	25
Tedavi 5	35	30
Tedavi 6	50	25
Tedavi 7	30	20
Tedavi 8	25	20

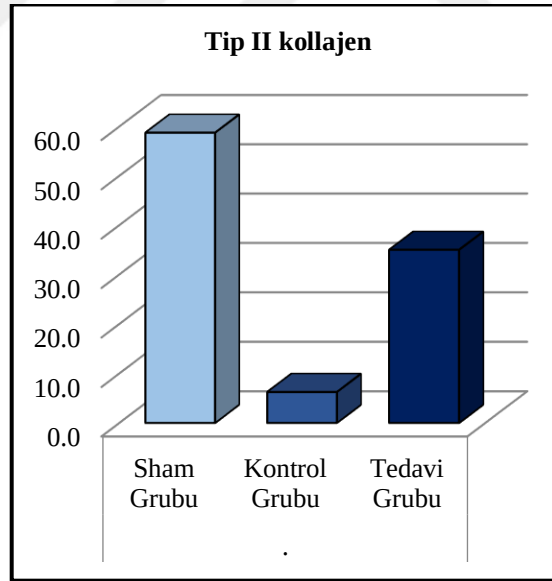
Yapılan H – Score verilerine göre tedavi grubu ve kontrol (OA) grubunda tip II kollajen düzeyi, sham grubundan anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha düşük saptanmıştır. Tedavi grubunda ise Tip II Kollajen düzeyi kontrol (OA) grubundan anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha yüksek saptanmıştır (Tablo 4.3.)

Tedavi grubu ve kontrol (OA) grubunda MMP - 13 düzeyi sham grubundan anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha yüksek saptanmıştır. Tedavi grubunda ise MMP – 13 düzeyinin kontrol (OA) grubundan anlamlı ($p < 0,050$) olarak daha düşük olduğu gözlenmiştir. (Tablo 4.5., Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.)

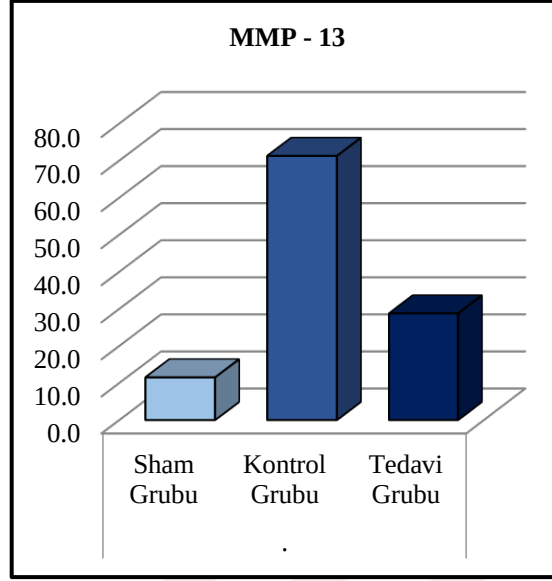
Tablo 4.5. Grupların H – Score verilerine göre immunhistokimyasal verilerinin analizi

		Sham Grubu ¹	Kontrol (OA) Grubu ²	Tedavi Grubu ³	P
Tip II kollajen	Ort.±ss	58,80 ± 5,20	6,30 ± 2,31	35,00 ± 7,60	0.000 ^K
	Medyan	60,00 ²³	5,00	35,00 ²	
MMP - 13	Ort.±ss	11,50 ± 2,27	71,30 ± 2,31	28,80 ± 8,30	0.000 ^K
	Medyan	10,00 ²³	70,00	27,50 ²	

^K Kruskal - wallis (Mann - whitney u test), ² Kontrol (OA) grubu ile fark $p < 0,050$ / ³ Tedavi grubu ile fark $p < 0,050$



Şekil 4.3. Grupların Tip II kollajen alfa 1 antikoru ile boyanma verilerinin grafik olarak gösterimi



Şekil 4.4. Grupların MMP - 13 antikoru ile boyanma verilerinin grafik olarak gösterimi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

OA erişkin yaşta en sık rastlanan kas – iskelet hastalıklarından biridir. Uzun yıllardır etyopatogenezi ve tedavisi ile ilgili çalışmalar yapılmasına rağmen ilerlemesini durduran ya da geri çevirebilen tedavi henüz mevcut değildir. 2012 yılında yapılan bir çalışmada 58 total diz artroplasti işlemi ile çıkarılan femur ve tibia kemiklerinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile K2 vitamin düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda diz OA'nın daha fazla geliştiği medial kompartmanda, hem femur hem de tibia da laterale göre K2 vitamin düzeyi daha az saptanmıştır (Ishii ve ark., 2013). Bu çalışma ve K vitaminin osteoporoz, kemik sağlığı, OA üzerine etkilerini birlikte değerlendirdiğimizde “K2 vitamin takviyesi ile OA lezyonlarının ilerlemesi yavaşlatılabilir” hipotezini kurarak çalışmamız planlanmıştır.

Çalışma için G – Power analizi ile 24 ratın çalışmaya alınması planlanmıştır. Çalışma için ratların seçilmesinin nedeni metabolizmalarının hızlı olmasından dolayı daha hızlı OA gelişmesi, sonuçların daha seri değerlendirilmesine olanak sağlanması, daha ucuz olması ve insan OA modellerine yakın olmasındandır (Lampropoulou - Adamidou ve ark., 2014; A. M. McCoy, 2015). Seçilen ratlar 8'erli 3 gruba ayrılmıştır. İlk grup sham grubu, ikinci grup kontrol (OA) grubu, üçüncü grup ise oral K2 vitamini verilen tedavi grubudur. Gruplar belirlenirken ratların benzer yaşa sahip olması ve gruplar arasında ağırlık farkları olmamasına dikkat edilmiştir.

OA modeli oluşturmak için literatürde kimyasal olarak OA modeli oluşturan moleküllerden MIA tercih edilmiştir. Bunun nedeni MIA'nın hızlı bir şekilde OA modeli oluşumuna imkân tanınması, ratlara herhangi bir cerrahi müdahale gerektirmeden dolayısıyla yara onarımı süreci gerektirmeden sadece intraartiküler girişim yoluyla model oluşumunu sağlayabilmesinden dolayıdır. Bu amaçla kontrol (OA) ve tedavi grubunun sağ femorotibial eklemlerine MIA enjeksiyonu uygulanırken, sham grubuna ise aynı hacimde fizyolojik salin enjekte edilmiştir.

Bu işlemlerin ardından 28 gün ratlara standart bakım sağlanmıştır, yalnızca tedavi grubuna ek olarak her gün 8 µg / gün oral K2 vitamini verilmiştir. Tedavinin 28 gün olarak belirlenmesi, yapılan çalışmalarda MIA'nın genellikle 28 gün sonunda OA'ya

ait fiziksel ve histolojik verileri etkin düzeyde göstermesinden dolayıdır (Marker ve Pomonis, 2012; Morais ve ark., 2016; Pitcher ve ark., 2016). 28 günün sonunda hayvan refahına uygun koşullar sağlanarak anestezi altında ekssanguinasyon yöntemi ile ratlar sakrifiye edilmiştir.

Sakrifikasyon sonrasında ratlardan alınan sağ diz femorotibial eklemleri Hematoksilen – Eozin ve Safranin – O ile histolojik olarak, tip II kollajen alfa – 1 ve MMP – 13 antikorlu ile de immunhistokimyasal olarak boyanmıştır.

Yapılan analizlerde ratların işlem öncesi ve işlem sonrası ağırlık ortalamaları her 3 grupta da benzer saptanmıştır. Her ne kadar tedavi grubunda, sham ve kontrol (OA) grubuna göre kilo alımında minimal olarak daha düşük değerler gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. 2018 yılında yapılan bir çalışmada 214 postmenopozal kadında K2 vitamini ile vücut yağ kompozisyonundaki değişim incelenmiştir. 3 yıllık analiz sonucunda K2 vitamini ile tedavi edilen grupta abdominal yağ kitlesinde ve tahmini olarak hesaplanan visseral yağ dokuda azalma saptanmıştır. Bu verilerle uyumlu olarak K2 vitamini alan grupta kiloda azalma saptanmıştır (Knapen ve ark., 2018). Çalışmamızdaki veriler bu sonucu istatistiksel olarak desteklememiştir.

Hematoksilen – Eozin ve Safranin – O ile yapılan incelemelerde kontrol (OA) grubunda OA modelinin etkin bir şekilde oluştuğu gözlenmiştir. Kontrol (OA) grubunda sham grubuna göre kıkırdak dokuda incelmeye, düzensizlik ve fibrilasyonlar, kondrosit kümelenmeleri gözlenmiştir. Aynı zamanda kontrol (OA) grubunda kemik dokunun yoğunlaştığı kıkırdak dokunun incelendiği alanlar baskın olarak gözlenmiştir. Ek olarak sinovyal dokuda kalınlaşmalar saptanmıştır. Oral K2 vitamini verilen tedavi grubunda ise kıkırdak dokuda incelmeye kontrol (OA) grubuna göre daha az olduğu, kıkırdak dokunun nispeten düzenli olduğu, kondrosit kümelenmelerinin daha seyrek görüldüğü saptanmıştır. Eklem kıkırdağında ise sinovyal doku artıklarına rastlanmamıştır.

Histolojik olarak gözlenen bu verilerle uyumlu olarak Mankin skoruna göre kontrol (OA) grubunda ($11,10 \pm 0,83$) ileri evre OA lehine dejenerasyon bulguları gözlenirken, tedavi grubunda ($4,25 \pm 1,16$) hafif ve orta evre OA lehine dejenerasyon bulguları saptanmıştır.

Eklem kıkırdağında ekstraselüler matriks içerisinde proteoglikan, kollajen, elastik ve retiküler lifler ve çeşitli glikoproteinler bulunmaktadır (Cancedda, 2009). Proteoglikanlar yoğun miktarda su içerdiği için eklem yüzeyine esneklik ve bu sayede şok absorpsiyon özellik sağlar. OA sürecine giren kıkırdakta proteoglikan miktarında azalma ve yapısında bozulmalar başlar. Bunun sonucunda mekanik stres doğrudan kollajen üzerine yük binmesine sebep olur. Kıkırdakta baskın olan kollajen tip II kollajendir ve bu durumdan en çok etkilenen kollajen tip II kollajendir. Tip II kollajen, yeni üretilen kıkırdak hücre sayısı ile ilişkilidir. Bu nedenle sağlıklı dokuda yoğunluğu daha fazladır (Cahue ve ark., 2007). Kollajen çoğu proteaza dirençli olmasına rağmen özellikle MMP – 13 tarafından tanınır ve hidrolize edilerek parçalanır (Inada ve ark. 2004). Bu nedenle OA bulunan eklem kıkırdağında tip II kollajen miktarında azalma gözlenirken, MMP – 13 düzeyinde artış saptanmaktadır (Mehana ve ark. 2019; Shao ve ark. 2014). Çalışmamızda immunhistokimyasal boyama sonuçlarına göre kontrol (OA) grubunda sham grubuna göre MMP - 13 antikoru ile boyanma düzeyi yoğun saptanırken, tip II kollajen alfa 1 antikoru ile boyanma seyrek olarak gözlenmiştir. Oral K2 vitamini alan tedavi grubunda ise kontrol (OA) grubunda gözlenen MMP - 13 düzeyine göre azalma, tip II kollajen düzeyinde ise artış gözlenmektedir. H – Score veri skorumlama sistemi ile de aynı sonuçlar alınmıştır.

Zoledronik asit tedavisinin OA progresyonu üzerine etkisinin incelendiği bir rat çalışmasında, ratlara OA indüksiyonunun farklı evrelerinde (OA modeli oluşturulduktan sonraki 0. gün, 4. hafta ve 8. hafta) zoledronik asit tedavisi başlanması ile OA progresyonunda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma sonucunda OA'nın erken evrelerinde başlanan tedavi ile subkondral kemikte oluşan anormalliklerin geri döndürülebileceği ve kıkırdak dejenerasyonunun yavaşlatılabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 0. günde başlanan tedavi ile kıkırdak dejenerasyonunda yavaşlama gözlenirken, 8. haftada başlanan tedavi ile olumlu sonuç elde edilememiştir (Yu ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde MIA ile OA modeli oluşturulmasından sonraki 0. günden itibaren K2 vitamini tedavisi başlanmıştır. 28 gün sonucunda 8 µg / gün oral K2 verilen tedavi grubunda, kontrol (OA) grubuna göre OA progresyonunun yavaşladığı gözlenmiştir.

Literatürde K2 vitaminin etkin doz pozolojisi net değildir. Özellikle osteoporoz konusunda yapılan çalışmalarda neredeyse 100 kata yakın fark olan dozlarda

kullanımlar mevcuttur (Z. B. Huang ve ark., 2015). Özellikle MK – 7 ve MK – 4 dozlarının arasındaki etkinlik farkları henüz net değildir. Bilindiği kadarıyla MK – 7'nin biyoyararlanımı diğer K2 vitamin türlerine göre daha fazladır (Shearer ve ark., 2012). NF – KB aktivasyonunu inhibe edici etkisinin MK – 7'nin MK – 4'e göre 10 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Yamaguchi ve Weitzmann, 2011). Sağlıklı kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada MK – 4 ve MK – 7'nin oral alımdan sonra serum düzeylerindeki artışlar incelenmiştir. Çalışmada iki ayrı grubun birisine kahvaltıdan sonra tek doz 420 µg MK – 7 verilirken, diğer gruba kahvaltıdan sonra 420 µg MK - 4 verilmiştir. Oral alımdan 6 saat sonra serum MK – 7 düzeyi maksimum seviyeye çıkarken, 48 saat sonrasına kadar kanda tespit edilebilmiştir. MK – 4 alan grupta ise herhangi bir zaman diliminde kanda tespit edilebilir düzeylere ulaşamamıştır. Aynı çalışmada yine iki farklı gruba 7 gün boyunca art arda kahvaltıdan sonra oral 60 µg MK – 4 ve 60 µg MK – 7 verilmiştir. Yine MK – 7 verilen grupta serum düzeylerinde önemli düzeyde artış gözlenirken, MK – 4 alan grupta ise serum düzeylerinde artış saptanmamıştır. Bu çalışma ile MK – 7 ve MK – 4'ün aynı miktarda oral alımları ile ciddi biyoyararlanım farkı olduğu gözlenmektedir (Sato ve ark., 2012). MK - 7 vitamininin toksikolojik dozunun değerlendirildiği bir hayvan çalışmasında tek doz kullanım için letal dozun 2000 mg / kg 'dan daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda 90 gün süreyle 10 mg / kg dozda MK - 7 verilen farelerde de hiçbir toksikolojik tabloya ve patolojik veriye rastlanmamıştır (Pucay ve ark., 2011).

K2 vitaminin OA'da etkinliği konusunda literatür verilerine göre yapılmış ilk çalışma bizim çalışmamızdır. Bu nedenle K2 vitaminin OA'da oral kullanım dozu ile ilgili veri yoktur ve çalışmamızda osteoporoz çalışmalarında kullanılan doz düzeyleri örnek alınmıştır. Bu bilgiler ışığında tedavi grubundaki ratlara 8 µg / gün vitamin K2 kullanımı verilmesi uygun görülmüştür (Wu ve ark., 2014).

MMP – 13 kemik formasyonu ve remodelingde anahtar rol alan bir enzimdir. Tip II kollajen ile birlikte tip I ve tip III kollajenin de yıkımını sağlar (De Almeida ve ark., 2022). MMP – 13'ün aktivitesi birçok faktör etkilemektedir. Fibroblast büyüme faktörü – 2 (FGF – 2) osteosit farklılaşması ve iskelet oluşumunda rol oynayan bir proteindir. Kondrositlerde FGF – 2'nin, Runx2 aracılığıyla MMP – 13 ekspresyonunu artırdığı saptanmıştır (X. Wang ve ark., 2004). Tavşan kondrositlerinde BMP – 2

ekspresyonu ile MMP – 13’ün aktivasyonunun arttığı gözlenmiştir (Krawczak ve ark., 2009). NF – KB sinyal yolunun aktivitesi ile MMP – 13’ün indüklendiği bildirilmiştir (Mengshol ve ark., 2000). TNF – α uygulanan kondrositlerde MMP – 13 düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (Liacini ve ark., 2003). Aynı zamanda ileri evre OA’da artan TNF – α seviyesi MMP – 13 ekspresyonunda artışla ilişkilendirilmiştir (Özler ve ark., 2016). Fakat yine de MMP – 13’ün aktivasyonunu sağlayan moleküller belirsizliğini korumaktadır. Yukarıda bahsettiğimiz gibi K2 vitamininin MMP – 13 aktivitesini düzenleyen moleküllerden TNF – α ve NF – KB’nin inhibitörü olduğu bilinmektedir (Yamaguchi ve Weitzmann, 2011). Çalışmamızda eklem kıkırdığında gözlenen MMP – 13’ün down regülasyonunun bir sebebi bu iki sitokinin inhibisyonu olabilir. Fakat BMP – 2 ve Runx2’nin aktivasyonu ile MMP – 13’ü artırması da beklenebilen bir sonuçtur (Jadhav ve ark., 2022; Y. L. Zhang ve ark., 2017). Bu zıt durumun total etki olarak MMP – 13’ün down regülasyonuna sebep olması başka faktörlerin de devrede olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

K2 vitaminin osteoblastik hücrelerde steroid ve ksenobiyotik reseptörünü (SXR) aktive ederek yeni kemik oluşumunu güçlendirebileceği gösterilmiştir (Tabb ve ark., 2003). Bu reseptörün hedef genlerinden birisinin hücre kültüründe yapılan bir çalışmada tsukushi (TSK) proteini olduğu saptanmıştır. TSK proteini aracılığıyla hücre kültüründe kollajen birikiminin arttığı gösterilmiştir (Ichikawa ve ark., 2006). Çalışmamızın sonuçları ile birleştirildiğinde K2 vitaminin eklem kıkırdığında hem SXR aktivasyonu sonucu TSK proteini aracılığıyla hem de MMP -13 inhibisyonu yolu ile tip II kollajen miktarında artış sağlayarak OA progresyonunu yavaşlatabileceği öngörülmektedir.

Osteoblastlar kemik metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayan hücrelerdir. OA patogenezinde osteoblastın rolü üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Osteoblast membranında bulunan RANKL ile osteoklast öncülleri üzerinde ise bu liganda karşılık gelen RANKL reseptörü (RANK) etkileşerek olgun osteoklastlar oluşur. RANK – RANKL etkileşiminin rekabetçi inhibisyonunda rol oynayan, osteoblastlar tarafından eksprese edilen OPG molekülüdür (Boyce ve Xing, 2007). Osteoblastlar RANKL / OPG oranını düzenleyerek osteoklastogenezin sıkı bir şekilde denetlenmesini sağlar (Hofbauer ve Schoppet, 2004) (Şekil 2.2.). OA’da iki farklı

osteoblast tanımlanmıştır: Subkondral kemikte bulunan düşük OA osteoblastları ve yüksek OA osteoblastları. Düşük OA osteoblastları, düşük PG – E2 ve IL – 6 seviyeleri ile karakterize edilirken, yüksek OA osteoblastları yüksek PG –E2 ve IL – 6 ile karakterize edilir (Massicotte ve ark., 2006). Düşük OA osteoblastları, OPG ekspresyonunda azalma ve artmış RANKL seviyesine sahipken, yüksek OA osteoblastları OPG ekspresyonunda artma ve RANKL seviyesinde azalma ile kendini gösterir. Bu farklılık düşük OA osteoblastlarının kemik rezorpsiyonunda görev aldığını, yüksek OA osteoblastlarının ise kemik oluşumuna (osteofit) neden olduğunu düşündürmüştür. PG – E2 inhibisyonun subkondral osteoblast üzerine etkisini incelemek amacıyla indometazin uygulaması yapılmıştır. İndometazin uygulaması ile yüksek OA osteoblastları inhibe olurken, düşük OA osteoblastları modüle olmamıştır. Bu çalışma ile indometazin uygulaması sonucunda yüksek OA osteoblastlarında gözlenen artmış OPG / RANKL oranı tersine çevrilerek azalmıştır (Tat ve ark., 2008).

Osteoblastlar üzerinde bulunan Ephrin B4 reseptörünün, Ephrin B2 tarafından aktive edilmesi ile kemik rezorpsiyon faktörlerinin azaldığı ve subkondral kemik metabolizmasının buna göre düzenlendiği gösterilmiştir (Kwan Tat ve ark., 2008). Başka bir çalışmada OA'lı hastalarda osteoporoz hastalarına göre osteoblastogenezin daha aktif olduğu sonucuna varılmıştır (Dragojević ve ark., 2011). Sonuç olarak OA patogenezinin farklı evrelerinde osteoblastların aktif rol aldığı gösterilmiştir. Osteoblastlar aynı zamanda kemik homeostazisinde en etkin elemanlardan birisidir. Dolayısıyla OA tedavisinde osteoblastlara yönelik düzenleyici ajanların çalışılması tedavi başarısını artırabilir. K2 vitaminin osteoblast farklılaşmasını indüklediği gösterilmiştir (W. Li ve ark., 2019; Yamaguchi ve Weitzmann, 2011) Aynı zamanda K2 vitamininin PG – E2 inhibisyonu sağladığı da düşünülmektedir (Hara ve ark., 1993). Bu sayede yüksek OA osteoblastlarda gözlenen OPG / RANKL oranının azalması sağlanabilir. Buna bağlı olarak K2 vitamini takviyesi sonucunda özellikle subkondral kemikteki osteoblastik hücrelerin uyarılması ile kemik mineralizasyonunun homeostazisi sağlanarak OA progresyonu engellenebilir. Bu verilere göre K2 vitamini aracılığıyla PG – E2 inhibisyonu ve sonuçta osteofit oluşumunun inhibe edilebileceğini öngörmekteyiz. Ancak bunun için detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Osteoporoz ile OA arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiştir. Bu çalışmalardan çıkarılan genel sonuç yüksek KMY ile OA arasında ilişki bulunduğu ve hatta OA'nın osteoporotik kalça kırığına karşı koruyucu olduğu yönündedir. Özellikle diz osteofiti ve eklem aralığında daralma olanlarda daha yüksek KMY düzeyleri gözlenmiştir (Dequeker ve ark., 1993; Hart ve ark., 2002a; Nevitt ve ark., 1995, 2010). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmanın sonucunda kadınlarda femur boynu ve lomber KMY ile OA arasında pozitif korelasyon saptanırken, erkeklerde lomber ve pelvis KMY'si ile OA arasında negatif korelasyon saptanmıştır (Jeon ve ark., 2020). KMY artışı ile OA görülme sıklığında artış görülmesine rağmen OA'nın progresyonunun azaldığı ise bazı çalışmalarda dikkat çekmiştir. Buna sebep olarak KMY artışı ile eklem alanı kaybı riskinin azalması düşünülmüştür (Hart ve ark., 2002b; Y. Zhang ve ark., 2000). K2 vitamini kullanımı ile KMY artışı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda OA progresyonunun oral K2 vitamini kullanımı ile yavaşlaması, KMY artışına bağlı olarak eklem alanı kaybı riskinin azalması ile ortaya çıkıyor olabilir.

İleri evre OA'larda ve özellikle ileri yaş hastalarda eklem kıkırdağında kalsifikasyon gözlenmesi olasıdır. Fakat erken evre OA ile kondrokalsinozisin ilişkisi bilinmemektedir. Radyografik olarak kıkırdak kalsifikasyonunun saptanmadığı durumlarda eklem kıkırdağında kalsifikasyon süreci başlıyor olabilir. Bu hipotezi araştırmak amacıyla 87 postmortem donör üzerinde bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada 20 - 93 yaş arasında (ortalama yaş 62.02 ± 19.04) donörler ölüm sebebine bakılmaksızın dahil edilmiştir. Çalışmada çoğunluğu ileri evre olmayan diz ve kalça OA olan donörlerde yüksek çözünürlüklü dijital radyografi aracılığıyla eklem kıkırdağında biriken kalsiyum depositleri incelenmiştir. Evreleme histolojik analiz yöntemi olan OARSI skoru (evre 0 – 6 arası) kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak donörlerin tamamında en az bir kalça ya da diz eklem kıkırdağında kondrokalsinozis saptanmıştır. Yaşa göre düzenleme yapıldıktan sonra histolojik OA derecesi ile ortalama kondrokalsinozis miktarı arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. OARSI skoru < 3 olan hastalarda bile kalçada % 86,6 ve diz eklemde % 87,3 kondrokalsinozis saptanmıştır. OARSI skoru > 3 olan hastalarda ise kalçada % 96, diz eklemde ise % 100 kondrokalsinozis saptanmıştır. Bu sonuçlar ışığında eklem kıkırdak kalsifikasyonunun sistemik bir kaynağı olabileceği düşünülmüştür. Aynı

zamanda OA'nın histolojik olarak saptanabilmesinden önce bile kondrokalsinozisin başlamasının zorunlu olduğu çalışmacılar tarafından öngörülmüştür (Hawellek ve ark., 2016). Daha önceki çalışmalarda eklem kıkırdığında, sinovyal sıvıda ve sinovyal membranda oluşan kalsifikasyonun OA ile doğrudan ilişkili olabileceği raporlanmıştır (Fuerst ve ark., 2009; Hernandez - Santana ve ark., 2011; Liu ve ark., 2009). Özellikle yumuşak doku başta olmak üzere birçok dokuda kalsifikasyonu önleyen temel protein MGP'dir. MGP'nin aktiflenebilmesi için de şart olan karboksilasyon reaksiyonu ise vitamin K2 aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Aynı zamanda zayıf karboksillenmiş MGP'nin diz OA'da radyografik ilerleme ile bağlantılı olabileceği gösterilmiştir (Bing ve Feng, 2015). Bu nedenle OA öncülü olabilecek kıkırdak ve sinovyal sıvıda gerçekleşen kalsifikasyonu önlemek için K2 vitamini anahtar bir rol oynuyor olabilir.

Gla açısından zengin protein (GRP), mersin balığının kalsifiye kıkırdak dokusundan elde edilen bir VKDP'dir. GRP diğer VKDP'lere göre çok daha yüksek miktarda kalsiyum bağlama özelliğine sahip bir proteindir. GRP'nin sıçanlarda kıkırdak dışında kemik dokusunda da eksprese edildiği gösterilmiştir (Viegas ve ark., 2008). 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada bu proteinin OA ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada OA eklem kıkırdığında ve sinovyal membranda ektopik kalsifikasyon bulunan bölgelerde yetersiz karboksillenmiş GRP'nin bulunduğu saptanmıştır (Rafael ve ark., 2014). Yine başka bir çalışmada karboksile edilmiş GRP'nin, ekstraselüler matriks kalsifikasyonunu önleyerek OA progresyonunu yavaşlattığı gösterilmiştir (Cavaco ve ark., 2016). Bu nedenle K2 vitamini GRP proteinin karboksilasyonunu sağlayarak OA progresyonunu yavaşlatabileceğini öngörmekteyiz.

OA'nın artan sıklığına rağmen henüz kesin bir medikal tedavisi yoktur. K2 vitamini ulaşımı kolay bir preperat olmakla birlikte kemik metabolizması üzerine birçok yararlı etkisi vardır. Çalışmamız sonucunda bilinen yararlı etkilerine ek olarak antiosteoartritik etkisi de eklenerek rutin OA tedavi protokollerine dahil edilmesi amaçlanmaktadır. K2 vitaminin şimdilik varfarin hariç ilaç etkileşiminin söz konusu olmaması ve komorbid durumlar ve ileri yaş hastalarda ciddi doz ayarı gerektirmemesi, kullanılan diğer OA farmakolojik tedavi ajanlarına göre daha rahat kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Bu çalışma güncel literatür verilerine göre K2

vitaminin OA üzerine etkisinin incelendiği ilk çalışmadır. OA üzerine etkisinin daha iyi analiz edilebilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.



6. KAYNAKÇA

- Abramson, S. B., Attur, M., & Yazici, Y. (2006). Prospects for disease modification in osteoarthritis. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, 2(6), 304–312.
- Akbari, S., & Rasouli - Ghahroudi, A. A. (2018). Vitamin K and bone metabolism: a review of the latest evidence in preclinical studies. *BioMed Research International*, 2018.
- Akbulut, A. C., Pavlic, A., Petsophonsakul, P., Halder, M., Maresz, K., Kramann, R., & Schurgers, L. (2020). Vitamin K2 needs an RDI separate from vitamin K1. *Nutrients*, 12(6), 1852.
- Al Rajabi, A., Booth, S. L., Peterson, J. W., Choi, S. W., Suttie, J. W., Shea, M. K., Miao, B., Grusak, M. A., & Fu, X. (2012). Deuterium-labeled phylloquinone has tissue-specific conversion to menaquinone-4 among Fischer 344 male rats. *The Journal of Nutrition*, 142(5), 841–845.
- Albuquerque - García, A., Rodrigues de Souza, D. P., Fernández de las Peñas, C., & Albuquerque - Sendín, F. (2015). Association between muscle trigger points, ongoing pain, function, and sleep quality in elderly women with bilateral painful knee osteoarthritis. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*, 38(4), 262–268.
- Alonso, N., Meinitzer, A., Fritz - Petrin, E., Enko, D., & Herrmann, M. (2023). Role of vitamin K in bone and muscle metabolism. *Calcified Tissue International*, 112(2), 178–196.
- Altman, R., Asch, E., Bloch, D., Bole, G., Borenstein, D., Brandt, K., Christy, W., Cooke, T. D., Greenwald, R., & Hochberg, M. (1986). Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis & Rheumatology*, 29(8), 1039–1049.
- Anderson, J. J., & Felson, D. T. (1988). Factors associated with osteoarthritis of the knee in the first national Health and Nutrition Examination Survey (HANES I) evidence for an association with overweight, race, and physical demands of work. *American Journal of Epidemiology*, 128(1), 179–189.
- Aoun, M., Makki, M., Azar, H., Matta, H., & Chelala, D. N. (2017). High dephosphorylated - uncarboxylated MGP in hemodialysis patients: risk factors and response to vitamin K2, a pre-post intervention clinical trial. *BMC Nephrology*, 18, 1–10.
- Arora, D., Taneja, Y., Sharma, A., Dhingra, A., & Guarve, K. (2023). Role of Apoptosis in the Pathogenesis of Osteoarthritis: An explicative review. *Current Rheumatology Reviews*.
- Arzi, B., Wisner, E. R., Huey, D. J., Kass, P. H., Hu, J., & Athanasiou, K. A. (2012). A proposed model of naturally occurring osteoarthritis in the domestic rabbit. *Lab Animal*, 41(1), 20–25.

Asakura, H., Myou, S., Ontachi, Y., Mizutani, T., Kato, M., Saito, M., Morishita, E., Yamazaki, M., & Nakao, S. (2001). Vitamin K administration to elderly patients with osteoporosis induces no hemostatic activation, even in those with suspected vitamin K deficiency. *Osteoporosis International*, 12, 996–1000.

Aslan, S. G., & Genç, H. (2023). Sarcopenia in knee osteoarthritis: The association with clinical and sonographic findings, physical function, and nutrition. *Irish Journal of Medical Science*, 192(3), 1231–1239.

Atalay, S., Alkan, B., & Aytekin, M. (2013). Osteoartrite güncel yaklaşım. *Ankara Medical Journal*, 13(1), 26–32.

Attur, M., Belitskaya - Lévy, I., Oh, C., Krasnokutsky, S., Greenberg, J., Samuels, J., Smiles, S., Lee, S., Patel, J., & Al - Mussawir, H. (2011). Increased interleukin - 1 β gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk for progression of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatology*, 63(7), 1908–1917.

Attur, M., Statnikov, A., Samuels, J., Li, Z., Alekseyenko, A. V, Greenberg, J. D., Krasnokutsky, S., Rybak, L., Lu, Q. A., & Todd, J. (2015). Plasma levels of interleukin - 1 receptor antagonist (IL - 1Ra) predict radiographic progression of symptomatic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(11), 1915–1924.

Badmaev, V. (2021). Randomized, Placebo - Controlled, Double - Blind Pilot Study of the Antinociceptive Effect of Menaquinone - 7 (Vitamin MK - 7) in Patients with Peripheral Neuropathy. *EC Neurology*, 13, 112–124.

Bannuru, R. R., Natov, N. S., Obadan, I. E., Price, L. L., Schmid, C. H., & McAlindon, T. E. (2009). Therapeutic trajectory of hyaluronic acid versus corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care & Research*, 61(12), 1704–1711.

Bannuru, R. R., Osani, M. C., Vaysbrot, E. E., Arden, N. K., Bennell, K., Bierma-Zeinstra, S. M. A., Kraus, V. B., Lohmander, L. S., Abbott, J. H., & Bhandari, M. (2019). OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 27(11), 1578–1589.

Bannuru, R. R., Schmid, C. H., Kent, D. M., Vaysbrot, E. E., Wong, J. B., & McAlindon, T. E. (2015). Comparative effectiveness of pharmacologic interventions for knee osteoarthritis: a systematic review and network meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 162(1), 46–54.

Bastick, A. N., Belo, J. N., Runhaar, J., & Bierma - Zeinstra, S. M. A. (2015). What are the prognostic factors for radiographic progression of knee osteoarthritis? A meta-analysis. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 473, 2969–2989.

Befrui, N., Elsner, J., Flessner, A., Huvanandana, J., Jarrousse, O., Le, T. N., Müller, M., Schulze, W. H. W., Taing, S., & Weidert, S. (2018). Vibroarthrography for early detection of knee osteoarthritis using normalized frequency features. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 56, 1499–1514.

Berenbaum, F. (2013). Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(1), 16–21.

- Berenjian, A., Mahanama, R., Kavanagh, J., & Dehghani, F. (2015). Vitamin K series: current status and future prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(2), 199–208.
- Berkner, K. L., & Runge, K. W. (2004). The physiology of vitamin K nutriture and vitamin K - dependent protein function in atherosclerosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2(12), 2118–2132.
- Beulens, J. W. J., Booth, S. L., Van Den Heuvel, E. G. H. M., Stoecklin, E., Baka, A., & Vermeer, C. (2013). The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *British Journal of Nutrition*, 110(8), 1357–1368.
- Beulens, J. W. J., Bots, M. L., Atsma, F., Bartelink, M.-L. E. L., Prokop, M., Geleijnse, J. M., Witteman, J. C. M., Grobbee, D. E., & Van Der Schouw, Y. T. (2009). High dietary menaquinone intake is associated with reduced coronary calcification. *Atherosclerosis*, 203(2), 489–493.
- Bhave, A. A., Mehta, D. S., Dound, Y. A., Jadhav, S. S., Vaidya, R. A., & Vaidya, A. D. B. (2019). Vitamin K2 - 7, a promising solution to peripheral neuropathy aroused due to multiple myeloma treatment. *The Indian Practitioner*, 72(1), 16–20.
- Bilge, A., Ulusoy, R. G., Üstebay, S., & Öztürk, Ö. (2018). Osteoartrit. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 8(1), 133–142.
- Bing, W., & Feng, L. (2015). Attenuate synovial fluid uncarboxylated matrix Gla-protein (ucMGP) concentrations are linked with radiographic progression in knee osteoarthritis. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 24(6), 1013–1017.
- Blagojevic, M., Jinks, C., Jeffery, A., & Jordan, K. P. (2010). Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta - analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(1), 24–33.
- Bliddal, H. (2020). Definition, pathology and pathogenesis of osteoarthritis. *Ugeskrift for Laeger*, 182(42), V06200477–V06200477.
- Bolland, M. J., Avenell, A., Baron, J. A., Grey, A., MacLennan, G. S., Gamble, G. D., & Reid, I. R. (2010). Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *British Medical Journal*, 341, c3691.
- Booth, S. L., Tucker, K. L., McKeown, N. M., Davidson, K. W., Dallal, G. E., & Sadowski, J. A. (1997). Relationships between dietary intakes and fasting plasma concentrations of fat - soluble vitamins in humans. *The Journal of Nutrition*, 127(4), 587–592.
- Boyce, B. F., & Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Research & Therapy*, 9(1), 1–7.
- Bryden, L. A., Nicholson, J. R., Doods, H., & Pekcec, A. (2015). Deficits in spontaneous burrowing behavior in the rat bilateral monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: an objective measure of pain - related behavior and analgesic efficacy. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(9), 1605–1612.
- Cahue, S., Sharma, L., Dunlop, D., Ionescu, M., Song, J., Lobanok, T., King, L., & Poole, A. R. (2007). The ratio of type II collagen breakdown to synthesis and its

relationship with the progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15(7), 819–823.

Caluwé, R., Vandecasteele, S., Van Vlem, B., Vermeer, C., & De Vriese, A. S. (2014). Vitamin K2 supplementation in haemodialysis patients: a randomized dose - finding study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(7), 1385–1390.

Cavaco, S., Viegas, C. S. B., Rafael, M. S., Ramos, A., Magalhães, J., Blanco, F. J., Vermeer, C., & Simes, D. C. (2016). Gla - rich protein is involved in the cross-talk between calcification and inflammation in osteoarthritis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 1051–1065.

Chevalier, X., Eymard, F., & Richette, P. (2013). Biologic agents in osteoarthritis: hopes and disappointments. *Nature Reviews Rheumatology*, 9(7), 400–410.

Chevalier, X., Goupille, P., Beaulieu, A. D., Burch, F. X., Bensen, W. G., Conrozier, T., Loeuille, D., Kivitz, A. J., Silver, D., & Appleton, B. E. (2009). Intraarticular injection of anakinra in osteoarthritis of the knee: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Care & Research*, 61(3), 344–352.

Choi, M.C., Jo, J., Park, J., Kang, H. K., & Park, Y. (2019). NF - KB signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction. *Cells*, 8(7), 734.

Chow, Y. Y., & Chin, K.-Y. (2020). The role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*, 2020.

Christiansen, B. A., Anderson, M. J., Lee, C. A., Williams, J. C., Yik, J. H. N., & Haudenschild, D. R. (2012). Musculoskeletal changes following non-invasive knee injury using a novel mouse model of post - traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20(7), 773–782.

Cicuttini, F. M., Baker, J., Hart, D. J., & Spector, T. D. (1996). Association of pain with radiological changes in different compartments and views of the knee joint. *Osteoarthritis and Cartilage*, 4(2), 143–147.

Coaccioli, S., Sarzi-Puttini, P., Zis, P., Rinonapoli, G., & Varrassi, G. (2022). Osteoarthritis: New insight on its pathophysiology. *Journal of Clinical Medicine*, 11(20), 6013.

Cockayne, S., Adamson, J., Lanham - New, S., Shearer, M. J., Gilbody, S., & Torgerson, D. J. (2006). Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Archives of Internal Medicine*, 166(12), 1256–1261.

Coggon, D., Reading, I., Croft, P., McLaren, M., Barrett, D., & Cooper, C. (2001). Knee osteoarthritis and obesity. *International Journal of Obesity*, 25(5), 622–627.

Collins, M. D., & Jones, D. (1981). Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implication. *Microbiological Reviews*, 45(2), 316–354.

Combe, R., Bramwell, S., & Field, M. J. (2004). The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? *Neuroscience Letters*, 370(2–3), 236–240.

- Conaghan, P. G., Bowes, M. A., Kingsbury, S. R., Brett, A., Guillard, G., Rizoska, B., Sjögren, N., Graham, P., Jansson, Å., & Wadell, C. (2020). Disease-modifying effects of a novel cathepsin K inhibitor in osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Annals of Internal Medicine*, 172(2), 86–95.
- Conly, J. M., & Stein, K. (1992). Quantitative and qualitative measurements of K vitamins in human intestinal contents. *American Journal of Gastroenterology (Springer Nature)*, 87(3).
- Cortez, V. S., Moraes, W. A., Taba, J. V., Condi, A., Suzuki, M. O., Nascimento, F. S. do, Pipek, L. Z., Mattos, V. C. de, Torsani, M. B., & Meyer, A. (2022). Comparing dextrose prolotherapy with other substances in knee osteoarthritis pain relief: A systematic review. *Clinics*, 77.
- Dam, H. (1935). The antihæmorrhagic vitamin of the chick.: occurrence and chemical nature. *Nature*, 135(3417), 652–653.
- Davis, J. E., Harkey, M. S., Ward, R. J., Mackay, J. W., Lu, B., Price, L. L., Eaton, C. B., Barbe, M. F., Lo, G. H., & McAlindon, T. E. (2018). Characterizing the distinct structural changes associated with self-reported knee injury among individuals with incident knee osteoarthritis: Data from the osteoarthritis initiative. *Clinical Anatomy*, 31(3), 330–334.
- Davis, J. E., Price, L. L., Lo, G. H., Eaton, C. B., McAlindon, T. E., Lu, B., Barbe, M. F., & Driban, J. B. (2017). A single recent injury is a potent risk factor for the development of accelerated knee osteoarthritis: data from the osteoarthritis initiative. *Rheumatology International*, 37, 1759–1764.
- Dawson, J., Juszcak, E., Thorogood, M., Marks, S. A., Dodd, C., & Fitzpatrick, R. (2003). An investigation of risk factors for symptomatic osteoarthritis of the knee in women using a life course approach. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 57(10), 823–830.
- de Almeida, L. G. N., Thode, H., Eslambolchi, Y., Chopra, S., Young, D., Gill, S., Devel, L., & Dufour, A. (2022). Matrix metalloproteinases: From molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 74(3), 714–770.
- Debbi, E. M., Agar, G., Fichman, G., Ziv, Y. B., Kardosh, R., Halperin, N., Elbaz, A., Beer, Y., & Debi, R. (2011). Efficacy of methylsulfonylmethane supplementation on osteoarthritis of the knee: a randomized controlled study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 1–9.
- Demiriz, S. Y., & Sarıkaya, S. (2021). Diz Osteoartriti Hastalarında Tanı ve Kılavuzlar Işığında Güncel Tedavi. *Batı Karadeniz Tıp Dergisi*, 5(2), 115–124.
- Dequeker, J., Johnell, O., Dilsen, G., Gennari, C., Vaz, A. A. L., Lyritis, G., Mazzuoli, G. D., Miravet, L., Passeri, M., & Pérez-Cano, R. (1993). Osteoarthritis protects against femoral neck fracture: the MEDOS study experience. *Bone*, 14, 51–56.
- Deshmukh, V., Hu, H., Barroga, C., Bossard, C., Kc, S., Dellamary, L., Stewart, J., Chiu, K., Ibanez, M., & Pedraza, M. (2018). A small-molecule inhibitor of the Wnt

pathway (SM04690) as a potential disease modifying agent for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis and Cartilage*, 26(1), 18–27.

Dor, A., & Kalichman, L. (2017). A myofascial component of pain in knee osteoarthritis. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 21(3), 642–647.

Dowd, P., Ham, S. W., Naganathan, S., & Hershline, R. (1995). The mechanism of action of vitamin K. *Annual Review of Nutrition*, 15(1), 419–440.

Dowsett, M., Nielsen, T. O., A'Hern, R., Bartlett, J., Coombes, R. C., Cuzick, J., Ellis, M., Henry, N. L., Hugh, J. C., & Lively, T. (2011). Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *Journal of the National Cancer Institute*, 103(22), 1656–1664.

Dragojevič, J., Logar, D. B., Komadina, R., & Marc, J. (2011). Osteoblastogenesis and adipogenesis are higher in osteoarthritic than in osteoporotic bone tissue. *Archives of Medical Research*, 42(5), 392–397.

Driban, J. B., Eaton, C. B., Lo, G. H., Ward, R. J., Lu, B., & McAlindon, T. E. (2014). Association of knee injuries with accelerated knee osteoarthritis progression: data from the Osteoarthritis Initiative. *Arthritis Care & Research*, 66(11), 1673–1679.

Driban, J. B., Harkey, M. S., Barbe, M. F., Ward, R. J., MacKay, J. W., Davis, J. E., Lu, B., Price, L. L., Eaton, C. B., & Lo, G. H. (2020). Risk factors and the natural history of accelerated knee osteoarthritis: a narrative review. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 21, 1–11.

Driban, J. B., Price, L. L., Eaton, C. B., Lu, B., Lo, G. H., Lapane, K. L., & McAlindon, T. E. (2016). Individuals with incident accelerated knee osteoarthritis have greater pain than those with common knee osteoarthritis progression: data from the Osteoarthritis Initiative. *Clinical Rheumatology*, 35, 1565–1571.

Driban, J. B., Stout, A. C., Duryea, J., Lo, G. H., Harvey, W. F., Price, L. L., Ward, R. J., Eaton, C. B., Barbe, M. F., & Lu, B. (2016). Coronal tibial slope is associated with accelerated knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 17, 1–7.

Driban, J. B., Stout, A. C., Lo, G. H., Eaton, C. B., Price, L. L., Lu, B., Barbe, M. F., & McAlindon, T. E. (2016). Best performing definition of accelerated knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 8(5), 165–171.

Du, F., Yan, M., Duan, L., Xie, G., Yao, X., Hu, W., Liu, Y., Meng, M., Chen, J., & Shao, D. (2023). The study of bioavailability and endogenous circadian rhythm of menaquinone-7, a form of vitamin K2, in healthy subjects. *British Journal of Nutrition*, 1–13.

Egloff, C., Hügle, T., & Valderrabano, V. (2012). Biomechanics and pathomechanisms of osteoarthritis. *Swiss Medical Weekly*, 142(2930), w13583–w13583.

- Englund, M., & Lohmander, L. S. (2004). Risk factors for symptomatic knee osteoarthritis fifteen to twenty-two years after meniscectomy. *Arthritis & Rheumatology*, 50(9), 2811–2819.
- Englund, M., Roos, E. M., & Lohmander, L. S. (2003). Impact of type of meniscal tear on radiographic and symptomatic knee osteoarthritis: a sixteen - year followup of meniscectomy with matched controls. *Arthritis & Rheumatology*, 48(8), 2178–2187.
- Enteshari - Moghaddam, A., Isazadehfar, K., Habibzadeh, A., & Hemmati, M. (2019). Efficacy of methotrexate on pain severity reduction and improvement of quality of life in patients with moderate to severe knee osteoarthritis. *Anesthesiology and Pain Medicine*, 9(3).
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., & Buchner, A. (2007). G Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39(2), 175–191.
- Felson, D. T., Couropmitree, N. N., Chaisson, C. E., Hannan, M. T., Zhang, Y., McAlindon, T. E., LaValley, M., Levy, D., & Myers, R. H. (1998). Evidence for a Mendelian gene in a segregation analysis of generalized radiographic osteoarthritis: the Framingham Study. *Arthritis & Rheumatology*, 41(6), 1064–1071.
- Felson, D. T., Zhang, Y., Anthony, J. M., Naimark, A., & Anderson, J. J. (1992). Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women: the Framingham Study. *Annals of Internal Medicine*, 116(7), 535–539.
- Felson, D. T., Zhang, Y., Hannan, M. T., Naimark, A., Weissman, B., Aliabadi, P., & Levy, D. (1997). Risk factors for incident radiographic knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Study. *Arthritis & Rheumatology*, 40(4), 728–733.
- Fidelix, T. S. A., Macedo, C. R., Maxwell, L. J., & Trevisani, V. F. M. (2014). Diacerein for osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2.
- Fields, J. K., Günther, S., & Sundberg, E. J. (2019). Structural basis of IL-1 family cytokine signaling. *Frontiers in Immunology*, 10, 1412.
- Flore, R., Ponziani, F. R., Di Rienzo, T. A., Zocco, M. A., Flex, A., Gerardino, L., Lupascu, A., Santoro, L., Santoliquido, A., & Di Stasio, E. (2013). Something more to say about calcium homeostasis: the role of vitamin K2 in vascular calcification and osteoporosis. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 17(19).
- Forster, T., Chapman, K., & Loughlin, J. (2004). Common variants within the interleukin 4 receptor α gene (IL4R) are associated with susceptibility to osteoarthritis. *Human Genetics*, 114, 391–395.
- Fuerst, M., Bertrand, J., Lammers, L., Dreier, R., Echtermeyer, F., Nitschke, Y., Rutsch, F., Schäfer, F. K. W., Niggemeyer, O., & Steinhagen, J. (2009). Calcification of articular cartilage in human osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatology*, 60(9), 2694–2703.
- Fusaro, M., D'Angelo, A., & Gallieni, M. (2012). Consequences of vitamin K2 deficiency in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 60(1), 169.

- Fusaro, M., Noale, M., Viola, V., Galli, F., Tripepi, G., Vajente, N., Plebani, M., Zaninotto, M., Guglielmi, G., & Miotto, D. (2012). Vitamin K, vertebral fractures, vascular calcifications, and mortality: Vitamin K Italian (VIKI) dialysis study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 27(11), 2271–2278.
- Garstang, S. V., & Stitik, T. P. (2006). Osteoarthritis: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 85(11), S2–S11.
- Gast, G. C. M., de Roos, N. M., Sluijs, I., Bots, M. L., Beulens, J. W. J., Geleijnse, J. M., Witteman, J. C., Grobbee, D. E., Peeters, P. H. M., & van der Schouw, Y. T. (2009). A high menaquinone intake reduces the incidence of coronary heart disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(7), 504–510.
- Gelber, A. C., Hochberg, M. C., Mead, L. A., Wang, N. Y., Wigley, F. M., & Klag, M. J. (2000). Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Annals of Internal Medicine*, 133(5), 321–328.
- Geleijnse, J. M., Vermeer, C., Grobbee, D. E., Schurgers, L. J., Knapen, M. H. J., Van Der Meer, I. M., Hofman, A., & Witteman, J. C. M. (2004). Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study. *The Journal of Nutrition*, 134(11), 3100–3105.
- Gigante, A., Bruguè, F., Cecconi, S., Manzotti, S., Littarru, G. P., & Tiano, L. (2015). Vitamin MK - 7 enhances vitamin D3 - induced osteogenesis in hMSCs: Modulation of key effectors in mineralization and vascularization. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9(6), 691–701.
- Gijssbers, B. L. M. G., Jie, K. S. G., & Vermeer, C. (1996). Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers. *British Journal of Nutrition*, 76(2), 223–229.
- Glasson, S. S. (2007). In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice. *Current Drug Targets*, 8(2), 367–376.
- Goldring, M. B. (2000). The role of the chondrocyte in osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatology*, 43(9), 1916–1926.
- Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2016). Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: structure, function and cartilage – bone crosstalk. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(11), 632–644.
- Goudarzi, S., Rivera, A., Butt, A. M., & Hafizi, S. (2016). Gas6 promotes oligodendrogenesis and myelination in the adult central nervous system and after lysolecithin - induced demyelination. *American Society for Neurochemistry Neuro*, 8(5), 1759091416668430.
- Griffin, T. P., Islam, M. N., Wall, D., Ferguson, J., Griffin, D. G., Griffin, M. D., & O'Shea, P. M. (2019). Plasma dephosphorylated - uncarboxylated Matrix Gla - Protein (dp - ucMGP): reference intervals in Caucasian adults and diabetic kidney disease biomarker potential. *Scientific Reports*, 9(1), 18452.

- Guermaz, A., Kalsi, G., Niu, J., Crema, M. D., Copeland, R. O., Orlando, A., Noh, M. J., & Roemer, F. W. (2017). Structural effects of intra-articular TGF - β 1 in moderate to advanced knee osteoarthritis: MRI - based assessment in a randomized controlled trial. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 18, 1–7.
- Ha, C. W., Noh, M. J., Choi, K. B., & Lee, K. H. (2012). Initial phase I safety of retrovirally transduced human chondrocytes expressing transforming growth factor-beta-1 in degenerative arthritis patients. *Cytotherapy*, 14(2), 247–256.
- Hadipour, E., Tayarani - Najaran, Z., & Fereidoni, M. (2020). Vitamin K2 protects PC12 cells against A β (1 - 42) and H₂O₂ - induced apoptosis via p38 MAP kinase pathway. *Nutritional Neuroscience*, 23(5), 343–352.
- Hamidi, M. S., Gajic - Veljanoski, O., & Cheung, A. M. (2013). Vitamin K and bone health. *Journal of Clinical Densitometry*, 16(4), 409–413.
- Hana, S., Aicha, B. T., Selim, D., Ines, M., & Rawdha, T. (2018). Clinical and radiographic features of knee osteoarthritis of elderly patients. *Current Rheumatology Reviews*, 14(2), 181–187.
- Hara, K., Akiyama, Y., Nakamura, T., Murota, S., & Morita, I. (1995). The inhibitory effect of vitamin K2 (menatetrenone) on bone resorption may be related to its side chain. *Bone*, 16(2), 179–184.
- Hara, K., Akiyama, Y., Tajima, T., & Shiraki, M. (1993). Menatetrenone inhibits bone resorption partly through inhibition of PGE₂ synthesis in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(5), 535–542.
- Hart, D. J., Cronin, C., Daniels, M., Worthy, T., Doyle, D. V, & Spector, T. D. (2002a). The relationship of bone density and fracture to incident and progressive radiographic osteoarthritis of the knee: the Chingford Study. *Arthritis & Rheumatology*, 46(1), 92–99.
- Hart, D. J., Cronin, C., Daniels, M., Worthy, T., Doyle, D. V, & Spector, T. D. (2002b). The relationship of bone density and fracture to incident and progressive radiographic osteoarthritis of the knee: the Chingford Study. *Arthritis & Rheumatology*, 46(1), 92–99.
- Hassan, G. S. (2013). Menadione. *Profiles Drug Substances Excipients and Related Methodology*, 38: 227–313.
- Hauschka, P. V, Lian, J. B., & Gallop, P. M. (1975). Direct identification of the calcium - binding amino acid, gamma - carboxyglutamate, in mineralized tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(10), 3925–3929.
- Hawellek, T., Hubert, J., Hischke, S., Krause, M., Bertrand, J., Pap, T., Püschel, K., Rüther, W., & Niemeier, A. (2016). Articular cartilage calcification of the hip and knee is highly prevalent, independent of age but associated with histological osteoarthritis: evidence for a systemic disorder. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24(12), 2092–2099.
- He, L., He, T., Xing, J., Zhou, Q., Fan, L., Liu, C., Chen, Y., Wu, D., Tian, Z., & Liu, B. (2020). Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes protect cartilage

damage and relieve knee osteoarthritis pain in a rat model of osteoarthritis. *Stem Cell Research & Therapy*, 11, 1–15.

Hedbom, E., & Häuselmann, H. J. (2002). Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 45–53.

Heidari, B. (2011). Knee osteoarthritis prevalence, risk factors, pathogenesis and features: Part I. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 2(2), 205.

Henderson, B., & Pettipher, E. R. (1989). Arthritogenic actions of recombinant IL - 1 and tumour necrosis factor alpha in the rabbit: evidence for synergistic interactions between cytokines in vivo. *Clinical and Experimental Immunology*, 75(2), 306.

Henrotin, Y., Malaise, M., Wittoek, R., Brasseur, J.-P., Luyten, F., Jiangang, Q., Van den Berghe, M., Uhoda, R., Bentin, J., & De Vroey, T. (2019). Bio-optimized curcuma longa extract is efficient on knee osteoarthritis pain: a double-blind multicenter randomized placebo controlled study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 27, S500.

Hernandez - Santana, A., Yavorsky, A., Loughran, S. T., McCarthy, G. M., & McMahon, G. P. (2011). New approaches in the detection of calcium-containing microcrystals in synovial fluid. *Bioanalysis*, 3(10), 1085–1091.

Hinman, R. S., & Bennell, K. L. (2009). Advances in insoles and shoes for knee osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 21(2), 164–170.

Hochberg, M. C., Guermazi, A., Guehring, H., Aydemir, A., Wax, S., Fleuranceau-Morel, P., Bihlet, A. R., Byrjalsen, I., Andersen, J. R., & Eckstein, F. (2019). Effect of intra-articular sprifermin vs placebo on femorotibial joint cartilage thickness in patients with osteoarthritis: the FORWARD randomized clinical trial. *Jama*, 322(14), 1360–1370.

Høegh-Andersen, P., Tankó, L. B., Andersen, T. L., Lundberg, C. V, Mo, J. A., Heegaard, A.-M., Delaissé, J.-M., & Christgau, S. (2004). Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. *Arthritis Research & Therapy*, 6, 1–12.

Hofbauer, L. C., & Schoppet, M. (2004). Clinical implications of the osteoprotegerin / RANKL / RANK system for bone and vascular diseases. *Jama*, 292(4), 490–495.

Hu, Y., Chen, X., Wang, S., Jing, Y., & Su, J. (2021). Subchondral bone microenvironment in osteoarthritis and pain. *Bone Research*, 9(1), 20.

Huang, S.-H., Fang, S.-T., & Chen, Y.-C. (2021). Molecular mechanism of vitamin K2 protection against amyloid β induced cytotoxicity. *Biomolecules*, 11(3), 423.

Huang, Z.-B., Wan, S. L., Lu, Y. J., Ning, L., Liu, C., & Fan, S. W. (2015). Does vitamin K2 play a role in the prevention and treatment of osteoporosis for postmenopausal women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoporosis International*, 26, 1175–1186.

Hussain, M. M., Goldberg, I. J., Weisgraber, K. H., Mahley, R. W., & Innerarity, T. L. (1997). Uptake of chylomicrons by the liver, but not by the bone marrow, is

modulated by lipoprotein lipase activity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 17(7), 1407–1413.

Hwang, H. S., & Kim, H. A. (2015). Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26035–26054.

Ichikawa, T., Horie Inoue, K., Ikeda, K., Blumberg, B., & Inoue, S. (2006). Steroid and xenobiotic receptor (SXR) mediates vitamin K2 activated transcription of extracellular matrix related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 281(25), 16927–16934.

Ide, Y., Zhang, H., Hamajima, H., Kawaguchi, Y., Eguchi, Y., Mizuta, T., Yamamoto, K., Fujimoto, K., & Ozaki, I. (2009). Inhibition of matrix metalloproteinase expression by menatetrenone, a vitamin K2 analogue. *Oncology Reports*, 22(3), 599–604.

Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure - function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*, 50(3), 184–195.

Ishii, Y., Noguchi, H., Takeda, M., Sato, J., Yamamoto, N., Wakabayashi, H., Kanda, J., & Toyabe, S. (2013). Distribution of vitamin K2 in subchondral bone in osteoarthritic knee joints. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 21, 1813–1818.

Iwamoto, J., Matsumoto, H., Takeda, T., Sato, Y., Liu, X., & Yeh, J. K. (2008). Effects of vitamin K2 and risedronate on bone formation and resorption, osteocyte lacunar system, and porosity in the cortical bone of glucocorticoid treated rats. *Calcified Tissue International*, 83, 121–128.

Iwamoto, J., Sato, Y., Takeda, T., & Matsumoto, H. (2009). High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. *Nutrition Research*, 29(4), 221–228.

Iwamoto, J., Seki, A., Sato, Y., Matsumoto, H., Takeda, T., & Yeh, J. K. (2010). Vitamin K2 promotes bone healing in a rat femoral osteotomy model with or without glucocorticoid treatment. *Calcified Tissue International*, 86, 234–241.

Iwamoto, J., Takeda, T., & Sato, Y. (2006). Menatetrenone (vitamin K2) and bone quality in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Nutrition Reviews*, 64(12), 509–517.

Jadhav, N., Ajgaonkar, S., Saha, P., Gurav, P., Pandey, A., Basudkar, V., Gada, Y., Panda, S., Jadhav, S., & Mehta, D. (2022). Molecular pathways and roles for vitamin K2-7 as a health-beneficial nutraceutical: Challenges and opportunities. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 896920.

Jenei-Lanzl, Z., Meurer, A., & Zaucke, F. (2019). Interleukin - 1 β signaling in osteoarthritis – chondrocytes in focus. *Cellular Signalling*, 53, 212–223.

Jeon, S. H., Lee, K. G., & Kim, M. S. (2020). Association of bone mineral density with the development of knee osteoarthritis in men and women: a cross - sectional study using the fourth and fifth Korea National Health and Nutrition Examination Surveys. *Archives of Osteoporosis*, 15, 1–16.

- Jimenez, P. A., Glasson, S. S., Trubetskoy, O. V, & Haimes, H. B. (1997). Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Comparative Medicine*, 47(6), 598–601.
- Kanamori, T., Shimizu, M., Okuno, M., Matsushima - Nishiwaki, R., Tsurumi, H., Kojima, S., & Moriwaki, H. (2007). Synergistic growth inhibition by acyclic retinoid and vitamin K2 in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Science*, 98(3), 431–437.
- Kaneda, M., Zhang, D., Bhattacharjee, R., Nakahama, K., Arij, S., & Morita, I. (2008). Vitamin K2 suppresses malignancy of HuH7 hepatoma cells via inhibition of connexin 43. *Cancer Letters*, 263(1), 53–60.
- Karataş, M. (2011). Osteoartrit varyantları ve sekonder osteoartrit. *Türk Geriatri Dergisi*, 14(1), 19-30.
- Karpiński, R., Krakowski, P., Jonak, J., Machrowska, A., Maciejewski, M., & Nogalski, A. (2022). Diagnostics of Articular Cartilage Damage Based on Generated Acoustic Signals Using ANN—Part I: Femoral-Tibial Joint. *Sensors*, 22(6), 2176.
- Katsuyama, H., Saijoh, K., Otsuki, T., Tomita, M., Fukunaga, M., & Sunami, S. (2007). Menaquinone - 7 regulates gene expression in osteoblastic MC3T3E1 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 19(2), 279–284.
- Katz, J. N., Arant, K. R., & Loeser, R. F. (2021). Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review. *Jama*, 325(6), 568–578.
- Kawakita, H., Tsuchida, A., Miyazawa, K., Naito, M., Shigoka, M., Kyo, B., Enomoto, M., Wada, T., Katsumata, K., & Ohyashiki, K. (2009). Growth inhibitory effects of vitamin K2 on colon cancer cell lines via different types of cell death including autophagy and apoptosis. *International Journal of Molecular Medicine*, 23(6), 709–716.
- Kellgren, J. H., & Lawrence, J. (1957). Radiological assessment of osteo-arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 16(4), 494.
- Kingsbury, S. R., Tharmanathan, P., Arden, N. K., Batley, M., Birrell, F., Cocks, K., Doherty, M., Edwards, C. J., Garrood, T., & Grainger, A. J. (2015). Pain reduction with oral methotrexate in knee osteoarthritis, a pragmatic phase iii trial of treatment effectiveness (PROMOTE): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 16, 1–14.
- Kingsbury, S. R., Tharmanathan, P., Keding, A., Ronaldson, S. J., Grainger, A., Wakefield, R. J., Arundel, C., Birrell, F., Doherty, M., & Vincent, T. (2018). Hydroxychloroquine effectiveness in reducing symptoms of hand osteoarthritis: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 168(6), 385–395.
- Knapen, M. H. J., Jardon, K. M., & Vermeer, C. (2018). Vitamin K - induced effects on body fat and weight: results from a 3 year vitamin K2 intervention study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(1), 136–141.

- Knapen, M. H. J., Vermeer, C., Braam, L. A. J. L. M., & Theuvsissen, E. (2014). Pharmacokinetics of menaquinone - 7 (vitamin K2) in healthy volunteers. *Journal of Clinical Trials*, 4(2), 1–6.
- Kojima, A., Ikehara, S., Kamiya, K., Kajita, E., Sato, Y., Kouda, K., Tamaki, J., Kagamimori, S., & Iki, M. (2020). Natto intake is inversely associated with osteoporotic fracture risk in postmenopausal Japanese women. *The Journal of Nutrition*, 150(3), 599–605.
- Kolasinski, S. L., Neogi, T., Hochberg, M. C., Oatis, C., Guyatt, G., Block, J., Callahan, L., Copenhaver, C., Dodge, C., & Felson, D. (2020). 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation guideline for the management of osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis & Rheumatology*, 72(2), 220–233.
- Komori, T. (2020). What is the function of osteocalcin? *Journal of Oral Biosciences*, 62(3), 223–227.
- Konishi, T., Baba, S., & Sone, H. (1973). Whole - body autoradiographic study of vitamin K distribution in rat. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 21(1), 220–224.
- Koshihara, Y., Hoshi, K., Okawara, R., Ishibashi, H., & Yamamoto, S. (2003). Vitamin K stimulates osteoblastogenesis and inhibits osteoclastogenesis in human bone marrow cell culture. *The Journal of Endocrinology*, 176(3), 339–348.
- Krawczak, D. A., Westendorf, J. J., Carlson, C. S., & Lewis, J. L. (2009). Influence of bone morphogenetic protein - 2 on the extracellular matrix, material properties, and gene expression of long term articular chondrocyte cultures: loss of chondrocyte stability. *Tissue Engineering Part A*, 15(6), 1247–1255.
- Krzeski, P., Buckland-Wright, C., Bálint, G., Cline, G. A., Stoner, K., Lyon, R., Beary, J., Aronstein, W. S., & Spector, T. D. (2007). Development of musculoskeletal toxicity without clear benefit after administration of PG - 116800, a matrix metalloproteinase inhibitor, to patients with knee osteoarthritis: a randomized, 12-month, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Research & Therapy*, 9(5), 1–11.
- Kujala, U. M., Kettunen, J., Paananen, H., Aalto, T., Battié, M. C., Impivaara, O., Videman, T., & Sarna, S. (1995). Knee osteoarthritis in former runners, soccer players, weight lifters, and shooters. *Arthritis & Rheumatology*, 38(4), 539–546.
- Kwan Tat, S., Pelletier, J., Amiable, N., Boileau, C., Lajeunesse, D., Duval, N., & Martel-Pelletier, J. (2008). Activation of the receptor EphB4 by its specific ligand ephrin B2 in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. *Arthritis & Rheumatology*, 58(12), 3820–3830.
- Lambert, C., Bellemère, G., Boyer, G., Ponelle, F., Bauer, T., Legeny, M.-C., Baudouin, C., & Henrotin, Y. (2022). Composition Analysis and Pharmacological Activity of Avocado / Soybean Unsaponifiable Products Used in the Treatment of Osteoarthritis. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 781389.
- Lampropoulou-Adamidou, K., Lelovas, P., Karadimas, E. V., Liakou, C., Triantafillopoulos, I. K., Dontas, I., & Papaioannou, N. A. (2014). Useful animal models for the research of osteoarthritis. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, 24, 263–271.

- Latourte, A., Cherifi, C., Maillet, J., Ea, H. K., Bouaziz, W., Funck-Brentano, T., Cohen - Solal, M., Hay, E., & Richette, P. (2017). Systemic inhibition of IL-6/Stat3 signalling protects against experimental osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 76(4), 748–755.
- Laufer, Y., Shtraker, H., & Elboim Gabizon, M. (2014). The effects of exercise and neuromuscular electrical stimulation in subjects with knee osteoarthritis: a 3-month follow-up study. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 1153–1161.
- Lawrence, R. C., Felson, D. T., Helmick, C. G., Arnold, L. M., Choi, H., Deyo, R. A., Gabriel, S., Hirsch, R., Hochberg, M. C., & Hunder, G. G. (2008). Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States: Part II. *Arthritis & Rheumatology*, 58(1), 26–35.
- Lee, B., Parvizi, J., Bramlet, D., Romness, D. W., Guermazi, A., Noh, M., Sodhi, N., Khlopas, A., & Mont, M. A. (2020). Results of a phase II study to determine the efficacy and safety of genetically engineered allogeneic human chondrocytes expressing TGF - β 1. *The Journal of Knee Surgery*, 33(02), 167–172.
- Lee, N. K., Sowa, H., Hinoi, E., Ferron, M., Ahn, J. D., Confavreux, C., Dacquin, R., Mee, P. J., McKee, M. D., & Jung, D. Y. (2007). Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*, 130(3), 456–469.
- Li, D., Li, S., Chen, Q., & Xie, X. (2020). The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in relation to age, sex, area, region, and body mass index in China: a systematic review and meta - analysis. *Frontiers in Medicine*, 7, 304.
- Li, L., Qi, Z., Qian, J., Bi, F., Lv, J., Xu, L., Zhang, L., Chen, H., & Jia, R. (2010). Induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma Smmc-7721 cells by vitamin K 2 is associated with p53 and independent of the intrinsic apoptotic pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 342, 125–131.
- Li, Q. Y., Xu, H. Y., & Yang, H. J. (2017). Effect of proinflammatory factors TNF - α , IL - 1 β , IL - 6 on neuropathic pain. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. China Journal of Chinese Materia Medica*, 42(19), 3709–3712.
- Li, S., Cao, P., Chen, T., & Ding, C. (2023). Latest insights in disease-modifying osteoarthritis drugs development. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 15, 1759720X231169839.
- Li, W., Zhang, S., Liu, J., Liu, Y., & Liang, Q. (2019). Vitamin K2 stimulates MC3T3 E1 osteoblast differentiation and mineralization through autophagy induction. *Molecular Medicine Reports*, 19(5), 3676–3684.
- Li, Y., Li, A., Strait, K., Zhang, H., Nanes, M. S., & Weitzmann, M. N. (2007). Endogenous TNF α lowers maximum peak bone mass and inhibits osteoblastic Smad activation through NF - KB. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22(5), 646–655.
- Liacini, A., Sylvester, J., Li, W. Q., Huang, W., Dehnade, F., Ahmad, M., & Zafarullah, M. (2003). Induction of matrix metalloproteinase - 13 gene expression by TNF- α is mediated by MAP kinases, AP - 1, and NF - KB transcription factors in articular chondrocytes. *Experimental Cell Research*, 288(1), 208–217.

- Liu, Y. Z., Jackson, A. P., & Cosgrove, S. D. (2009). Contribution of calcium - containing crystals to cartilage degradation and synovial inflammation in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17(10), 1333–1340.
- Lohmander, L. S., Hellot, S., Dreher, D., Krantz, E. F. W., Kruger, D. S., Guermazi, A., & Eckstein, F. (2014). Intraarticular sprifermin (recombinant human fibroblast growth factor 18) in knee osteoarthritis: a randomized, double - blind, placebo - controlled trial. *Arthritis & Rheumatology*, 66(7), 1820–1831.
- Lu, C. H., Chung, C. H., Lee, C. H., Hsieh, C. H., Hung, Y. J., Lin, F. H., Tsao, C. H., Hsieh, P. S., & Chien, W. C. (2018). Combination COX - 2 inhibitor and metformin attenuate rate of joint replacement in osteoarthritis with diabetes: A nationwide, retrospective, matched - cohort study in Taiwan. *PLoS One*, 13(1), e0191242.
- Ma, M., Ma, Z., He, Y., Sun, H., Yang, B., Ruan, B., Zhan, W., Li, S., Dong, H., & Wang, Y. (2022). Efficacy of vitamin K2 in the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: A systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Public Health*, 10, 979649.
- MacDonald, I. J., Liu, S. C., Su, C. M., Wang, Y. H., Tsai, C. H., & Tang, C. H. (2018). Implications of angiogenesis involvement in arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 2012.
- Malfait, A. M., & Little, C. B. (2015). On the predictive utility of animal models of osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 17, 1–14.
- Manek, N. J., & Lane, N. E. (2000). Osteoarthritis: current concepts in diagnosis and management. *American Family Physician*, 61(6), 1795–1804.
- Manheimer, E., Cheng, K., Linde, K., Lao, L., Yoo, J., Wieland, S., van der Windt, D. A. W. M., Berman, B. M., & Bouter, L. M. (2010). Acupuncture for peripheral joint osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD001977.
- Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., & Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips: II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 53(3), 523–537.
- Manna, P., & Kalita, J. (2016). Beneficial role of vitamin K supplementation on insulin sensitivity, glucose metabolism, and the reduced risk of type 2 diabetes: A review. *Nutrition*, 32(7–8), 732–739.
- Manoury, E., Jourdon, K., Boyaval, P., & Fourcassié, P. (2013). Quantitative measurement of vitamin K2 (menaquinones) in various fermented dairy products using a reliable high-performance liquid chromatography method. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1335–1346.
- Maresz, K. (2015). Proper calcium use: vitamin K2 as a promoter of bone and cardiovascular health. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, 14(1), 34.
- Marker, C. L., & Pomonis, J. D. (2012). The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis pain in the rat. *Pain Research: Methods and Protocols*, 239–248.

- Marles, R. J., Roe, A. L., & Oketch - Rabah, H. A. (2017). US Pharmacopeial Convention safety evaluation of menaquinone - 7, a form of vitamin K. *Nutrition Reviews*, 75(7), 553–578.
- Martel - Pelletier, J., Mccollum, R., Dibattista, J., Faure, M., Chin, J. A., Fournier, S., Sarfati, M., & Pelletier, J. (1992). The interleukin - 1 receptor in normal and osteoarthritic human articular chondrocytes. Identification as the type I receptor and analysis of binding kinetics and biologic function. *Arthritis & Rheumatology*, 35(5), 530–540.
- Massicotte, F., Aubry, I., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J. P., Fernandes, J., & Lajeunesse, D. (2006). Abnormal insulin - like growth factor 1 signaling in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. *Arthritis Research & Therapy*, 8(6), 1–12.
- McAlindon, T. E., Bannuru, R., Sullivan, M. C., Arden, N. K., Berenbaum, F., Bierma - Zeinstra, S. M., Hawker, G. A., Henrotin, Y., Hunter, D. J., & Kawaguchi, H. (2014). OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22(3), 363–388.
- McAlindon, T., Zhang, Y., Hannan, M., Naimark, A., Weissman, B., Castelli, W., & Felson, D. (1996). Are risk factors for patellofemoral and tibiofemoral knee osteoarthritis different? *The Journal of Rheumatology*, 23(2), 332–337.
- McCoy, A. M. (2015). Animal models of osteoarthritis: comparisons and key considerations. *Veterinary Pathology*, 52(5), 803–818.
- McCoy, G. F., McCrea, J. D., Beverland, D. E., Kernohan, W. G., & Mollan, R. A. (1987). Vibration arthrography as a diagnostic aid in diseases of the knee. A preliminary report. *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*, 69(2), 288–293.
- McIlwraith, C. W., Fortier, L. A., Frisbie, D. D., & Nixon, A. J. (2011). Equine models of articular cartilage repair. *Cartilage*, 2(4), 317–326.
- Mehana, E. S. E., Khafaga, A. F., & El-Blehi, S. S. (2019). The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: An updated review. *Life Sciences*, 234, 116786.
- Mehta, D. S., Dound, Y. A., Jadhav, S. S., Bhave, A. A., Devale, M., & Vaidya, A. D. B. (2018). A novel potential role of Vitamin K2 - 7 in relieving peripheral neuropathy. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 9(4), 180–185.
- Mengshol, J. A., Vincenti, M. P., Coon, C. I., Barchowsky, A., & Brinckerhoff, C. E. (2000). Interleukin - 1 induction of collagenase 3 (matrix metalloproteinase 13) gene expression in chondrocytes requires p38, c - Jun N - terminal kinase, and nuclear factor KB: differential regulation of collagenase 1 and collagenase 3. *Arthritis & Rheumatology*, 43(4), 801–811.
- Michael, J. W.-P., Schlüter-Brust, K. U., & Eysel, P. (2010). The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Deutsches Arzteblatt International*, 107(9), 152.

- Michaëlsson, K., Melhus, H., Lemming, E. W., Wolk, A., & Byberg, L. (2013). Long term calcium intake and rates of all cause and cardiovascular mortality: community based prospective longitudinal cohort study. *British Medical Journal*, 346.
- Mimpen, J. Y., Baldwin, M. J., Cribbs, A. P., Philpott, M., Carr, A. J., Dakin, S. G., & Snelling, S. J. B. (2021). Interleukin - 17A causes osteoarthritis - like transcriptional changes in human osteoarthritis - derived chondrocytes and synovial fibroblasts in vitro. *Frontiers in Immunology*, 12, 676173.
- Misra, D., Booth, S. L., Tolstykh, I., Felson, D. T., Nevitt, M. C., Lewis, C. E., Torner, J., & Neogi, T. (2013). Vitamin K deficiency is associated with incident knee osteoarthritis. *The American Journal of Medicine*, 126(3), 243–248.
- Miyauchi, S., Machida, A., Onaya, J., Sakamoto, T., Tokuyasu, K., & Iwata, H. (1993). Alterations of proteoglycan synthesis in rabbit articular cartilage induced by intra - articular injection of papain. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1(4), 253–262.
- Molnar, V., Matišić, V., Kodvanj, I., Bjelica, R., Jeleč, Ž., Hudetz, D., Rod, E., Čukelj, F., Vrdoljak, T., & Vidović, D. (2021). Cytokines and chemokines involved in osteoarthritis pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9208.
- Morais, S. V. de, Czeczko, N. G., Malafaia, O., Ribas Filho, J. M., Garcia, J. B. S., Miguel, M. T., Zini, C., & Massignan, A. G. (2016). Osteoarthritis model induced by intra-articular monosodium iodoacetate in rats knee. *Acta Cirurgica Brasileira*, 31, 765–773.
- Moreau, M., Lussier, B., Pelletier, J. P., Martel Pelletier, J., Bédard, C., Gauvin, D., & Troncy, E. (2014). A medicinal herb - based natural health product improves the condition of a canine natural osteoarthritis model: a randomized placebo-controlled trial. *Research in Veterinary Science*, 97(3), 574–581.
- Morishita, T., Tamura, N., Makino, T., & Kudo, S. (1999). Production of menaquinones by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 82(9), 1897–1903.
- Muraki, S., Akune, T., Oka, H., Ishimoto, Y., Nagata, K., Yoshida, M., Tokimura, F., Nakamura, K., Kawaguchi, H., & Yoshimura, N. (2012). Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis and knee pain in Japanese men and women: A longitudinal population - based cohort study. *Arthritis & Rheumatology*, 64(5), 1447–1456.
- Myneni, V. D., & Mezey, E. (2017). Regulation of bone remodeling by vitamin K2. *Oral Diseases*, 23(8), 1021–1028.
- Neogi, T., Booth, S. L., Zhang, Y. Q., Jacques, P. F., Terkeltaub, R., Aliabadi, P., & Felson, D. T. (2006). Low vitamin K status is associated with osteoarthritis in the hand and knee. *Arthritis & Rheumatology*, 54(4), 1255–1261.
- Nevitt, M. C., Lane, N. E., Scott, J. C., Hochberg, M. C., Pressman, A. R., Genant, H. K., & Cummings, S. R. (1995). Radiographic osteoarthritis of the hip and bone mineral density. *Arthritis & Rheumatology*, 38(7), 907–916.

- Nevitt, M. C., Zhang, Y., Javaid, M. K., Neogi, T., Curtis, J. R., Niu, J., McCulloch, C. E., Segal, N. A., & Felson, D. T. (2010). High systemic bone mineral density increases the risk of incident knee OA and joint space narrowing, but not radiographic progression of existing knee OA: the MOST study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(01), 163–168.
- Nieves, J. W. (2005). Osteoporosis: the role of micronutrients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(5), 1232S-1239S.
- O’Connell, B., Wragg, N. M., & Wilson, S. L. (2019). The use of PRP injections in the management of knee osteoarthritis. *Cell and Tissue Research*, 376, 143–152.
- Oikonomaki, T., Papasotiriou, M., Ntrinas, T., Kalogeropoulou, C., Zabakis, P., Kalavrizioti, D., Papadakis, I., Goumenos, D. S., & Papachristou, E. (2019). The effect of vitamin K2 supplementation on vascular calcification in haemodialysis patients: a 1 - year follow - up randomized trial. *International Urology and Nephrology*, 51, 2037–2044.
- Okano, T., Shimomura, Y., Yamane, M., Suhara, Y., Kamao, M., Sugiura, M., & Nakagawa, K. (2008). Conversion of phyloquinone (Vitamin K1) into menaquinone-4 (Vitamin K2) in mice: two possible routes for menaquinone - 4 accumulation in cerebra of mice. *Journal of Biological Chemistry*, 283(17), 11270–11279.
- Oliviero, A., Giordano, L., & Maffulli, N. (2019). The temporal effect of intra - articular ozone injections on pain in knee osteoarthritis. *British Medical Bulletin*, 132(1), 33–44.
- Orimo, H., Nakamura, T., Hosoi, T., Iki, M., Uenishi, K., Endo, N., Ohta, H., Shiraki, M., Sugimoto, T., & Suzuki, T. (2012). Japanese 2011 guidelines for prevention and treatment of osteoporosis - executive summary. *Archives of Osteoporosis*, 7, 3–20.
- Ostergaard, K., Andersen, C. B., Petersen, J., Bendtzen, K., & Salter, D. M. (1999). Validity of histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58(4), 208–213.
- Oury, F., Ferron, M., Huizhen, W., Confavreux, C., Xu, L., Lacombe, J., Srinivas, P., Chamouni, A., Lugani, F., & Lejeune, H. (2013). Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas – bone - testis axis. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(6), 2421–2433.
- Ozaki, I., Zhang, H., Mizuta, T., Ide, Y., Eguchi, Y., Yasutake, T., Sakamaki, T., Pestell, R. G., & Yamamoto, K. (2007). Menatetrenone, a vitamin K2 analogue, inhibits hepatocellular carcinoma cell growth by suppressing cyclin D1 expression through inhibition of nuclear factor KB activation. *Clinical Cancer Research*, 13(7), 2236–2245.
- Özler, K., Aktaş, E., Atay, Ç., Yılmaz, B., Arıkan, M., & Güngör, Ş. (2016). Serum and knee synovial fluid matrixmetalloproteinase - 13 and tumor necrosis factor-alpha levels in patients with late stage osteoarthritis. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 50(6), 670–673.

- Palazzo, C., Nguyen, C., Lefevre - Colau, M.-M., Rannou, F., & Poiraudau, S. (2016). Risk factors and burden of osteoarthritis. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 59(3), 134–138.
- Peat, G., Duncan, R. C., Wood, L. R. J., Thomas, E., & Muller, S. (2012). Clinical features of symptomatic patellofemoral joint osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 14, 1–10.
- Peat, G., Thomas, E., Duncan, R., Wood, L., Wilkie, R., Hill, J., Hay, E. M., & Croft, P. (2007). Estimating the probability of radiographic osteoarthritis in the older patient with knee pain. *Arthritis Care & Research*, 57(5), 794–802.
- Pelletier, J., Martel - Pelletier, J., & Abramson, S. B. (2001). Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis & Rheumatology*, 44(6), 1237–1247.
- Pelletier, J. P., & Martel - Pelletier, J. (2007). DMOAD Developments: Present and future. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 65(3), 242–248.
- Pereira, D., Ramos, E., & Branco, J. (2015). Osteoarthritis. *Acta Medica Portuguesa*, 28(1), 99–106.
- Pitcher, T., Sousa - Valente, J., & Malcangio, M. (2016). The monoiodoacetate model of osteoarthritis pain in the mouse. *Journal of Visualized Experiments*, 111, e53746.
- Plaza, S. M., & Lamson, D. W. (2005). Vitamin K2 in bone metabolism and osteoporosis. *Alternative Medicine Review*, 10(1), 24–35.
- Plotnikoff, R., Karunamuni, N., Lytvyak, E., Penfold, C., Schopflocher, D., Imayama, I., Johnson, S. T., & Raine, K. (2015). Osteoarthritis prevalence and modifiable factors: a population study. *BMC Public Health*, 15(1), 1–10.
- Poulet, B., Hamilton, R. W., Shefelbine, S., & Pitsillides, A. A. (2011). Characterizing a novel and adjustable noninvasive murine joint loading model. *Arthritis & Rheumatology*, 63(1), 137–147.
- Pucaj, K., Rasmussen, H., Møller, M., & Preston, T. (2011). Safety and toxicological evaluation of a synthetic vitamin K2, menaquinone - 7. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 21(7), 520–532.
- Qin, Y., He, J., Xia, L., Guo, H., & He, C. (2013). Effects of electro-acupuncture on oestrogen levels, body weight, articular cartilage histology and MMP - 13 expression in ovariectomised rabbits. *Acupuncture in Medicine*, 31(2), 214–221.
- Qiu, C., Zheng, H., Tao, H., Yu, W., Jiang, X., Li, A., Jin, H., Lv, A., & Li, H. (2017). Vitamin K2 inhibits rat vascular smooth muscle cell calcification by restoring the Gas6 / Axl / Akt anti - apoptotic pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 433, 149–159.
- Rafael, M. S., Cavaco, S., Viegas, C. S. B., Santos, S., Ramos, A., Willems, B. A. G., Herfs, M., Theuwissen, E., Vermeer, C., & Simes, D. C. (2014). Insights into the association of Gla - rich protein and osteoarthritis, novel splice variants and γ - carboxylation status. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(8), 1636–1646.

- Raposo, F., Ramos, M., & Lúcia Cruz, A. (2021). Effects of exercise on knee osteoarthritis: A systematic review. *Musculoskeletal Care*, 19(4), 399–435.
- Raynauld, J. P., Martel - Pelletier, J., Berthiaume, M. J., Abram, F., Choquette, D., Haraoui, B., Beary, J. F., Cline, G. A., Meyer, J. M., & Pelletier, J. P. (2008). Correlation between bone lesion changes and cartilage volume loss in patients with osteoarthritis of the knee as assessed by quantitative magnetic resonance imaging over a 24-month period. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 67(5), 683–688.
- Reginster, J. Y., Neuprez, A., Lecart, M. P., Sarlet, N., & Bruyere, O. (2012). Role of glucosamine in the treatment for osteoarthritis. *Rheumatology International*, 32, 2959–2967.
- Riddle, D. L., Stratford, P. W., & Perera, R. A. (2016). The incident tibiofemoral osteoarthritis with rapid progression phenotype: development and validation of a prognostic prediction rule. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24(12), 2100–2107.
- Rishavy, M. A., & Berkner, K. L. (2012). Vitamin K oxygenation, glutamate carboxylation, and processivity: defining the three critical facets of catalysis by the vitamin K – dependent carboxylase. *Advances in Nutrition*, 3(2), 135–148.
- Robert-Lachaine, X., Dessery, Y., Belzile, É. L., & Corbeil, P. (2022). Knee braces and foot orthoses multimodal treatment of medial knee osteoarthritis. *Gait & Posture*, 96, 251–256.
- Rönn, K., Reischl, N., Gautier, E., & Jacobi, M. (2011). Current surgical treatment of knee osteoarthritis. *Arthritis*, 2011.
- Rønn, S. H., Harsløf, T., Oei, L., Pedersen, S. B., & Langdahl, B. L. (2021). The effect of vitamin MK - 7 on bone mineral density and microarchitecture in postmenopausal women with osteopenia, a 3 - year randomized, placebo - controlled clinical trial. *Osteoporosis International*, 32, 185–191.
- Roos, H., Laurén, M., Adalberth, T., Roos, E. M., Jonsson, K., & Lohmander, L. S. (1998). Knee osteoarthritis after meniscectomy: prevalence of radiographic changes after twenty - one years, compared with matched controls. *Arthritis & Rheumatology*, 41(4), 687–693.
- Ruan, G., Yuan, S., Lou, A., Mo, Y., Qu, Y., Guo, D., Guan, S., Zhang, Y., Lan, X., & Luo, J. (2022). Can metformin relieve tibiofemoral cartilage volume loss and knee symptoms in overweight knee osteoarthritis patients? Study protocol for a randomized, double - blind, and placebo - controlled trial. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 23(1), 486.
- Ruff, K. J., Winkler, A., Jackson, R. W., DeVore, D. P., & Ritz, B. W. (2009). Eggshell membrane in the treatment of pain and stiffness from osteoarthritis of the knee: a randomized, multicenter, double - blind, placebo - controlled clinical study. *Clinical Rheumatology*, 28, 907–914.
- Sabha, M., & Hochberg, M. C. (2022). Non - surgical management of hip and knee osteoarthritis; comparison of ACR / AF and OARSI 2019 and VA / DoD 2020 guidelines. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, 4(1), 100232.

Sabha, M., Siaton, B. C., & Hochberg, M. C. (2020). Lorecivivint, an intra - articular potential disease - modifying osteoarthritis drug. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29(12), 1339–1346.

Saito, M. (2009). Effect of vitamin K on bone material properties. *Clinical Calcium*, 19(12), 1797–1804.

Samvelyan, H. J., Hughes, D., Stevens, C., & Staines, K. A. (2021). Models of osteoarthritis: relevance and new insights. *Calcified Tissue International*, 109, 243–256.

Sandmark, H., & Vingård, E. (1999). Sports and risk for severe osteoarthrosis of the knee. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 9(5), 279–284.

Sato, T., Schurgers, L. J., & Uenishi, K. (2012). Comparison of menaquinone - 4 and menaquinone - 7 bioavailability in healthy women. *Nutrition Journal*, 11, 1–4.

Scanzello, C. R. (2017). Chemokines and inflammation in osteoarthritis: insights from patients and animal models. *Journal of Orthopaedic Research*, 35(4), 735–739.

Scanzello, C. R., Umoh, E., Pessler, F., Diaz-Torne, C., Miles, T., Dicarlo, E., Potter, H. G., Mandl, L., Marx, R., & Rodeo, S. (2009). Local cytokine profiles in knee osteoarthritis: elevated synovial fluid interleukin - 15 differentiates early from end - stage disease. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17(8), 1040–1048.

Schulze - Tanzil, G., Zreiqat, H., Sabat, R., Kohl, B., Halder, A., Muller, R. D., & John, T. (2009). Interleukin - 10 and articular cartilage: experimental therapeutical approaches in cartilage disorders. *Current Gene Therapy*, 9(4), 306–315.

Schurgers, L. J., Teunissen, K. J. F., Hamulyák, K., Knapen, M. H. J., Vik, H., & Vermeer, C. (2007). Vitamin K – containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto - derived menaquinone-7. *Blood*, 109(8), 3279–3283.

Schurgers, L. J., & Vermeer, C. (2000). Determination of phylloquinone and menaquinones in food. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 30(6), 298–307.

Schurgers, L. J., & Vermeer, C. (2002). Differential lipoprotein transport pathways of K - vitamins in healthy subjects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1570(1), 27–32.

Schwalfenberg, G. K. (2017). Vitamins K1 and K2: The emerging group of vitamins required for human health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017.

Séguin, C. A., & Bernier, S. M. (2003). TNF α suppresses link protein and type II collagen expression in chondrocytes: role of MEK 1 / 2 and NF - KB signaling pathways. *Journal of Cellular Physiology*, 197(3), 356–369.

Sendzik, J., Lode, H., & Stahlmann, R. (2009). Quinolone - induced arthropathy: an update focusing on new mechanistic and clinical data. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(3), 194–200.

- Setton, L. A., Mow, V. C., Müller, F. J., Pita, J. C., & Howell, D. S. (1997). Mechanical behavior and biochemical composition of canine knee cartilage following periods of joint disuse and disuse with remobilization. *Osteoarthritis and Cartilage*, 5(1), 1–16.
- Shan, Y., Qi, C., Liu, Y., Gao, H., Zhao, D., & Jiang, Y. (2017). Increased frequency of peripheral blood follicular helper T cells and elevated serum IL 21 levels in patients with knee osteoarthritis. *Molecular Medicine Reports*, 15(3), 1095–1102.
- Sharma, L., Kapoor, D., & Issa, S. (2006). Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Current Opinion in Rheumatology*, 18(2), 147–156.
- Shea, M. K., Kritchevsky, S. B., Hsu, F. C., Nevitt, M., Booth, S. L., Kwoh, C. K., McAlindon, T. E., Vermeer, C., Drummen, N., & Harris, T. B. (2015). The association between vitamin K status and knee osteoarthritis features in older adults: the Health, Aging and Body Composition Study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(3), 370–378.
- Shearer, M. J. (1992). Vitamin K metabolism and nutriture. *Blood Reviews*, 6(2), 92–104.
- Shearer, M. J., Fu, X., & Booth, S. L. (2012). Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research. *Advances in Nutrition*, 3(2), 182–195.
- Shearer, M. J., & Newman, P. (2008). Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thrombosis and Haemostasis*, 100(10), 530–547.
- Singh, J. A., Noorbaloochi, S., MacDonald, R., & Maxwell, L. J. (2015). Chondroitin for osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1.
- Sinusas, K. (2012). Osteoarthritis: Diagnosis and treatment. *American Family Physician*, 85(1), 49–56.
- Sniekers, Y. H., Weinans, H., Bierma - Zeinstra, S. M., Van Leeuwen, J., & Van Osch, G. (2008). Animal models for osteoarthritis: The effect of ovariectomy and estrogen treatment – a systematic approach. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16(5), 533–541.
- Sohn, D. H., Sokolove, J., Sharpe, O., Erhart, J. C., Chandra, P. E., Lahey, L. J., Lindstrom, T. M., Hwang, I., Boyer, K. A., & Andriacchi, T. P. (2012). Plasma proteins present in osteoarthritic synovial fluid can stimulate cytokine production via Toll - like receptor 4. *Arthritis Research & Therapy*, 14(1), 1–13.
- Sokoll, L. J., & Sadowski, J. A. (1996). Comparison of biochemical indexes for assessing vitamin K nutritional status in a healthy adult population. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(4), 566–573.
- Spector, T. D., & MacGregor, A. J. (2004). Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12, 39–44.
- Staines, K. A., Poulet, B., Wentworth, D. N., & Pitsillides, A. A. (2017). The STR / ort mouse model of spontaneous osteoarthritis – an update. *Osteoarthritis and Cartilage*, 25(6), 802–808.
- Sulzbacher, I. (2012). Osteoarthritis: histology and pathogenesis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 163(9–10), 212–219.

- Sun, J.-M., Sun, L.-Z., Liu, J., Su, B., & Shi, L. (2013). Serum interleukin - 15 levels are associated with severity of pain in patients with knee osteoarthritis. *Disease Markers*, 35, 203–206.
- Suzuki, Y., & Okamoto, M. (1997). Production of hen's eggs rich in vitamin K. *Nutrition Research*, 17(10), 1607–1615.
- Tabb, M. M., Sun, A., Zhou, C., Grun, F., Errandi, J., Romero, K., Pham, H., Inoue, S., Mallick, S., & Lin, M. (2003). Vitamin K2 regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. *Journal of Biological Chemistry*, 278(45), 43919–43927.
- Tanaka, N., & Hoshiyama, M. (2012). Vibroarthrography in patients with knee arthropathy. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, 25(2), 117–122.
- Tang, H., Zheng, Z., Wang, H., Wang, L., Zhao, G., & Wang, P. (2022). Vitamin K2 modulates mitochondrial dysfunction induced by 6 - hydroxydopamine in SH - SY5Y cells via mitochondrial quality-control loop. *Nutrients*, 14(7), 1504.
- Tao, Y., Qiu, X., Xu, C., Sun, B., & Shi, C. (2015). Expression and correlation of matrix metalloproteinase - 7 and interleukin - 15 in human osteoarthritis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(8), 9112.
- Tat, S. K., Pelletier, J. P., Lajeunesse, D., Fahmi, H., Duval, N., & Martel-Pelletier, J. (2008). Differential modulation of RANKL isoforms by human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts: influence of osteotropic factors. *Bone*, 43(2), 284–291.
- Teeple, E., Jay, G. D., Elsaid, K. A., & Fleming, B. C. (2013). Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 15, 438–446.
- Theeuwes, W. F., Van Den Bosch, M. H. J., Thurlings, R. M., Blom, A. B., & Van Lent, P. L. E. M. (2021). The role of inflammation in mesenchymal stromal cell therapy in osteoarthritis, perspectives for post - traumatic osteoarthritis: a review. *Rheumatology*, 60(3), 1042–1053.
- Thelin, N., Holmberg, S., & Thelin, A. (2006). Knee injuries account for the sports - related increased risk of knee osteoarthritis. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 16(5), 329–333.
- Theuwissen, E., Magdeleyns, E. J., Braam, L., Teunissen, K. J., Knapen, M. H., Binnekamp, I. A. G., van Summeren, M. J. H., & Vermeer, C. (2014). Vitamin K status in healthy volunteers. *Food & Function*, 5(2), 229–234.
- Theuwissen, E., Teunissen, K. J., Spronk, H. M. H., Hamulyák, K., Ten Cate, H., Shearer, M. J., Vermeer, C., & Schurgers, L. J. (2013). Effect of low - dose supplements of menaquinone - 7 (vitamin K2) on the stability of oral anticoagulant treatment: dose – response relationship in healthy volunteers. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 11(6), 1085–1092.
- Turkiewicz, A., Gerhardsson de Verdier, M., Engström, G., Nilsson, P. M., Mellström, C., Lohmander, L. S., & Englund, M. (2015). Prevalence of knee pain and knee OA in

southern Sweden and the proportion that seeks medical care. *Rheumatology*, 54(5), 827–835.

Uematsu, T., Nagashima, S., Niwa, M., Kohno, K., Sassa, T., Ishii, M., Tomono, Y., Yamato, C., & Kanamaru, M. (1996). Effect of dietary fat content on oral bioavailability of menatetrenone in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(9), 1012–1016.

Ulloa-Padilla, J. P., Ghassibi, M. P., Dubovy, S. R., & Kerr, D. A. (2020). Clinicopathologic correlation of kaposi sarcoma involving the ocular adnexa: immunophenotyping of diagnostic and therapeutic targets. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*, 36(2), 185–190.

Uthman, I., Raynauld, J. P., & Haraoui, B. (2003). Intra - articular therapy in osteoarthritis. *Postgraduate Medical Journal*, 79(934), 449–453.

Uysal, F. G., & Basaran, S. (2009). Knee osteoarthritis / diz osteoartriti. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1–8.

Vaidya, R., Godse, C., Saha, P., Ajgaonkar, S., Pandey, A., Gurav, P., Jadhav, N., Nair, S., Jadhav, S., & Mehta, D. (2022). An Intrinsic Need for Vitamin K2 - 7 Supplementation - A Narrative Review of K2 - 7 and Peripheral Neuropathy. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 42(3), 33679–33687.

Vaira, S., Johnson, T., Hirbe, A. C., Alhawagri, M., Anwisye, I., Sammut, B., O'Neal, J., Zou, W., Weilbaecher, K. N., & Faccio, R. (2008). RelB is the NF - KB subunit downstream of NIK responsible for osteoclast differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(10), 3897–3902.

Van Den Heuvel, E. G. H. M., van Schoor, N. M., Lips, P., Magdeleyns, E. J. P., Deeg, D. J. H., Vermeer, C., & den Heijer, M. (2014). Circulating uncarboxylated matrix Gla protein, a marker of vitamin K status, as a risk factor of cardiovascular disease. *Maturitas*, 77(2), 137–141.

Van Der Kraan, P.M. (2023). Collagenase-Induced Osteoarthritis in Mice. In: Stoddart, M.J., Della Bella, E., Armiento, A.R., eds. Cartilage Tissue Engineering. Methods in Molecular Biology, vol 2598. Humana, New York, p:375-379.

Vandenbroucke, R. E., & Libert, C. (2014). Is there new hope for therapeutic matrix metalloproteinase inhibition? *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(12), 904–927.

Vermeer, C., Raes, J., Van't Hoofd, C., Knapen, M. H. J., & Xanthoulea, S. (2018). Menaquinone content of cheese. *Nutrients*, 10(4), 446.

Vermeer, C., & Vik, H. (2020). Effect of Menaquinone - 7 (vitamin K2) on vascular elasticity in healthy subjects: results from a one - year study. *Vascular Diseases and Therapeutics*, 5, 1–4.

Viegas, C. S. B., Simes, D. C., Laizé, V., Williamson, M. K., Price, P. A., & Cancela, M. L. (2008). Gla - rich protein (GRP), a new vitamin K - dependent protein identified from sturgeon cartilage and highly conserved in vertebrates. *Journal of Biological Chemistry*, 283(52), 36655–36664.

- Villafañe, J. H., Valdes, K., Pedersini, P., & Berjano, P. (2019). Osteoarthritis: A call for research on central pain mechanism and personalized prevention strategies. *Clinical Rheumatology*, 38, 583–584.
- VK, K., Upase, D. P., Dound, Y. A., Jadhav, S. S., Bhawe, A. A., Mehta, D. S., & Vaidya, A. D. B. (2013). The effect of vitamin K2 - 7 in peripheral neuropathy due to Vitamin B12 deficiency and / or diabetes mellitus. *The Indian Practitioner*, 66(10).
- Wang, H., Li, L., Zhang, N., & Ma, Y. (2022). Vitamin K2 improves osteogenic differentiation by inhibiting stat1 via the Bcl-6 and IL - 6 / JAK in C3H10 T1 / 2 Clone 8 cells. *Nutrients*, 14(14), 2934.
- Wang, X., Manner, P. A., Horner, A., Shum, L., Tuan, R. S., & Nuckolls, G. H. (2004). Regulation of MMP - 13 expression by RUNX2 and FGF2 in osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12(12), 963–973.
- Wang, Y., Xu, D., Long, L., Deng, X., Tao, R., & Huang, G. (2014). Correlation between plasma, synovial fluid and articular cartilage Interleukin - 18 with radiographic severity in 33 patients with osteoarthritis of the knee. *Clinical and Experimental Medicine*, 14, 297–304.
- Wang, Z., Jones, G., Winzenberg, T., Cai, G., Laslett, L. L., Aitken, D., Hopper, I., Singh, A., Jones, R., & Frupp, J. (2020). Effectiveness of Curcuma longa extract for the treatment of symptoms and effusion - synovitis of knee osteoarthritis: A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 173(11), 861–869.
- Wasilewski, G. B., Vervloet, M. G., & Schurgers, L. J. (2019). The bone - vasculature axis: calcium supplementation and the role of vitamin K. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6, 6.
- Wei, F. F., Drummen, N. E. A., Schutte, A. E., Thijs, L., Jacobs, L., Petit, T., Yang, W. Y., Smith, W., Zhang, Z. Y., & Gu, Y. M. (2016). Vitamin K dependent protection of renal function in multi - ethnic population studies. *EBioMedicine*, 4, 162–169.
- Wenham, C. Y. J., & Conaghan, P. G. (2009). Imaging the painful osteoarthritic knee joint: what have we learned? *Nature Reviews Rheumatology*, 5(3), 149–158.
- Westacott, C. I., Barakat, A. F., Wood, L., Perry, M. J., Neison, P., Bisbinas, I., Armstrong, L., Millar, A. B., & Elson, C. J. (2000). Tumor necrosis factor alpha can contribute to focal loss of cartilage in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 8(3), 213–221.
- Westenfeld, R., Krueger, T., Schlieper, G., Cranenburg, E. C. M., Magdeleyns, E. J., Heidenreich, S., Holzmann, S., Vermeer, C., Jahnen - Dechent, W., & Ketteler, M. (2012). Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *American Journal of Kidney Diseases*, 59(2), 186–195.
- Wortley, M., Zhang, S., Paquette, M., Byrd, E., Baumgartner, L., Klipple, G., Krusenklau, J., & Brown, L. (2013). Effects of resistance and Tai Ji training on mobility and symptoms in knee osteoarthritis patients. *Journal of Sport and Health Science*, 2(4), 209–214.

- Wu, W. J., Lee, H. Y., Lee, G. H., Chae, H. J., & Ahn, B. Y. (2014). The antiosteoporotic effects of Cheonggukjang containing vitamin K2 (menaquinone - 7) in ovariectomized rats. *Journal of Medicinal Food*, 17(12), 1298–1305.
- Xv, F., Chen, J., Duan, L., & Li, S. (2018). Research progress on the anticancer effects of vitamin K2. *Oncology Letters*, 15(6), 8926–8934.
- Yamaguchi, M., & Ma, Z. J. (2001). Inhibitory effect of menaquinone - 7 (vitamin K2) on osteoclast - like cell formation and osteoclastic bone resorption in rat bone tissues in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 228, 39–47.
- Yamaguchi, M., Sugimoto, E., & Hachiya, S. (2001). Stimulatory effect of menaquinone - 7 (vitamin K2) on osteoblastic bone formation in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 223, 131–137.
- Yamaguchi, M., Uchiyama, S., & Tsukamoto, Y. (2003). Inhibitory effect of menaquinone - 7 (vitamin K 2) on the bone - resorbing factors - induced bone resorption in elderly female rat femoral tissues in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 245, 115–120.
- Yamaguchi, M., & Weitzmann, M. N. (2011). Vitamin K2 stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by suppressing NF-κB activation. *International Journal of Molecular Medicine*, 27(1), 3–14.
- Yang, R. Y., Pan, J. Y., Chen, Y., Li, Y., Wu, J., & Wang, X. D. (2020). Menaquinone - 7 protects astrocytes by regulating mitochondrial function and inflammatory response under hypoxic conditions. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 24(19).
- Yi, C., Yi, Y., Wei, J., Jin, Q., Li, J., & Sacitharan, P. K. (2021). Targeting IL - 22 and IL - 22R protects against experimental osteoarthritis. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(5), 1329–1331.
- Yokoyama, T., Miyazawa, K., Naito, M., Toyotake, J., Tauchi, T., Itoh, M., Yuo, A., Hayashi, Y., Georgescu, M. M., & Kondo, Y. (2008). Vitamin K2 induces autophagy and apoptosis simultaneously in leukemia cells. *Autophagy*, 4(5), 629–640.
- Yoshiji, H., Noguchi, R., Yamazaki, M., Ikenaka, Y., Sawai, M., Ishikawa, M., Kawaratani, H., Mashitani, T., Kitade, M., & Kaji, K. (2007). Combined treatment of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates hepatic dysplastic nodule in a patient with liver cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 13(23), 3259.
- Yoshizawa, T., Hinoi, E., Jung, D. Y., Kajimura, D., Ferron, M., Seo, J., Graff, J. M., Kim, J. K., & Karsenty, G. (2009). The transcription factor ATF4 regulates glucose metabolism in mice through its expression in osteoblasts. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(9), 2807–2817.
- Yu, D., Yu, B., Mao, Y., Zhao, X., Wang, X., Ding, H., Cao, L., Liu, G., Nie, S., & Liu, S. (2012). Efficacy of zoledronic acid in treatment of teoarthritis is dependent on the disease progression stage in rat medial meniscal tear model. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(7), 924–934.

- Yusuf, E., Kortekaas, M. C., Watt, I., Huizinga, T. W. J., & Kloppenburg, M. (2011). Do knee abnormalities visualised on MRI explain knee pain in knee osteoarthritis? A systematic review. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(1), 60–67.
- Zahan, O. M., Serban, O., Gherman, C., & Fodor, D. (2020). The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Medicine and Pharmacy Reports*, 93(1), 12.
- Zelová, H., & Hošek, J. (2013). TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflammation Research*, 62, 641–651.
- Zhang, W., Doherty, M., Peat, G., Bierma-Zeinstra, M. A., Arden, N. K., Bresnihan, B., Herrero-Beaumont, G., Kirschner, S., Leeb, B. F., & Lohmander, L. S. (2010). EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(3), 483–489.
- Zhang, Y., Hannan, M. T., Chaisson, C. E., McAlindon, T. E., Evans, S. R., Aliabadi, P., Levy, D., & Felson, D. T. (2000). Bone mineral density and risk of incident and progressive radiographic knee osteoarthritis in women: the Framingham Study. *The Journal of Rheumatology*, 27(4), 1032–1037.
- Zhang, Y. L., Yin, J. H., Ding, H., Zhang, W., Zhang, C. Q., & Gao, Y. S. (2017). Protective effect of VK2 on glucocorticoid - treated MC3T3 - E1 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 39(1), 160–166.
- Zhang, Z., Leong, D. J., Xu, L., He, Z., Wang, A., Navati, M., Kim, S. J., Hirsh, D. M., Hardin, J. A., & Cobelli, N. J. (2016). Curcumin slows osteoarthritis progression and relieves osteoarthritis-associated pain symptoms in a post - traumatic osteoarthritis mouse model. *Arthritis Research & Therapy*, 18(1), 1–12.
- Zheng, W., Feng, Z., You, S., Zhang, H., Tao, Z., Wang, Q., Chen, H., & Wu, Y. (2017). Fisetin inhibits IL - 1 β - induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes through activating SIRT1 and attenuates the progression of osteoarthritis in mice. *International Immunopharmacology*, 45, 135–147.

7. EKLER

7.1. EK-1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Onay Belgesi

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ		
SAKARYA UNIVERSITY ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHIC COMMITTEE RESEARCH APPROVAL CERTIFICATE		
Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Ratlarda Deneyisel Olarak Oluşturulmuş Osteoartrit Modelinde Oral K2vitamini Kullanımının Diz Osteoartrit Progresyonu Üzerine Etkisi	
Yürütücü <i>Chief Investigator</i>	Prof. Dr. İbrahim TEKEOĞLU	
Yrd. Araştırmacı(lar) Co-investigator(s)	Dr. Emre UZUN, Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK, Prof. Dr. Elvan ŞAHİN, Dr. Öğr. Üyesi Hilseyin ÇAKIROĞLU	
Araş. Başlama Tarihi/ <i>Research Starting Date</i>		
Proje Süresi/ <i>Total Time of Project</i>	9 Ay	
Kullanılan Hayvan Türü/ <i>Animal Species</i>	Rat/Sprague Dawley	
Kullanılan Hayvan Cinsiyeti ve Sayısı/ <i>Animal Sex and number</i>	Erkek - 24 adet	
Araş. Destekleyen Kuruluş (varsa) <i>Funding institution(s) (if available)</i>	-	
Destek Şekli ve Miktarı <i>Type and amount of funding</i>	-	
Karar: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 12/ 01 / 2022 tarih ve 06 sayılı kararı ile; yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin ☒ gerçekleştirilmesinin Uygun Olduğuna Karar Verilmiştir. ☐ Yeniden düzenlenmesine Karar Verilmiştir. ☐ gerçekleştirilmesinin Uygun Olmadığına Karar Verilmiştir.		
Decision: With the decision of the Local Ethics Committee of Animal Experiments of Sakarya University dated 12/01/2022 and numbered 06; it has been decided that above mentioned research project is ☒ Appropriate to carry out. ☐ Rearranged ☐ Not Appropriate to carry out.		
	BAŞKAN/CHAIR	
	Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU	
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Prof. Dr. Ali Fuat ERDEN	Dr. Öğr. Üyesi Hilseyin ÇAKIROĞLU (Veteriner Hekim)	Prof. Dr. Pelin TANYERİ
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Prof. Dr. Kerem KARAMAN	Prof. Dr. Hâşim AKSOY	Dr. Öğr. Üyesi Songül DOĞANAY
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Mürşad YILDIZ	Doç. Dr. Alinur KARA	Dr. Öğr. Üyesi Havva SERT
	ÜYE / MEMBER	
	İsmail AKKIN	

7.2. EK-2: Hayvan Deneyleri Kullanım Sertifikası



ÖZGEÇMİŞ

Adı	EMRE	Soyadı	UZUN
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	TC	Tel:	
E-mail			
Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı		Mezuniyet Yılı
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ		2016
İş Deneyimi			
Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)	
1 PRATİSYEN HEKİM	İSTANBUL BEYLİKDÜZÜ DEVLET HASTANESİ	2016-2017	
2 AİLE HEKİMLİĞİ ASİSTAN HEKİM	İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ	2017-2017	
3 ADLİ TIP ASİSTAN HEKİM	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ	2017-2017	
4 FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ASİSTAN HEKİM	SAKARYA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ	2019-2023	

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İNGİLİZCE	İYİ	ORTA	ORTA