

Hidroksiapatit–Glukozamin–Kondroitin Sülfat Kompozitleri: Kemik Rejenerasyonunda Güncel Eğilimler

Hydroxyapatite–Glucosamine–Chondroitin Sulfate Composites: Current Trends in Bone Regeneration

Tuğçe KÜÇÜKALİ¹, Hande ERENŞOY², Serap AYAZ SEYHAN³, Dilek BİLGİÇ ALKAYA⁴

TK: [0009-0000-6348-5031](#), HE: [0000-0003-0643-9199](#), SAS: [0000-0001-5908-2766](#),
DBA: [0000-0002-7837-0250](#)

¹Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Dr. Öğretim Üyesi, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Doç. Dr., Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Prof. Dr., Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Özet

Kemik rejenerasyonu, özellikle kemiğin doğal iyileşme kapasitesinin yetersiz olduğu kritik büyüklükteki defektlerin tedavisinde, ortopedide önemli bir klinik zorluk olmaya devam etmektedir. Doğal kemiğin mineral fazını yakından taklit eden bir kalsiyum fosfat seramiği olan hidroksiapatit (HAp), mükemmel biyo-uyumluluğu ve osteokondüktif özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, kırılabilirliği ve sınırlı mekanik dayanıklılığı uygulamasını kısıtlamaktadır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için, glukozamin (GS) ve kondroitin sülfat (CS) gibi biyolojik olarak aktif glikozaminoglikanların ile umut vadeden bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Bu biyomoleküller sadece hücre dışı matris organizasyonunda önemli bir rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda osteoblast proliferasyonu, ve inflamasyon gibi hücrel süreçleri aktif olarak düzenlemektedir.

Bu inceleme, HAp–GS–CS bazlı kompozit sistemlerdeki son gelişmeleri, tasarım, yapı ve biyolojik performanslarına odaklanarak değerlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hidroksiapatit, Glukozamin, Kondroitin sülfat, Nanokompozit

Abstract

Bone regeneration remains a significant clinical challenge in orthopedics, particularly in the treatment of critical-sized defects where the bone's natural healing capacity is insufficient. Hydroxyapatite (HAp), a calcium phosphate ceramic that closely mimics the mineral phase of natural bone, is widely used due to its excellent biocompatibility and osteoconductive properties. However, its brittleness and limited mechanical strength restrict its application. To overcome these limitations, biologically active glycosaminoglycans such as glucosamine (GS) and chondroitin sulfate (CS) have emerged as a promising strategy. These biomolecules not only play a crucial role in extracellular matrix organization but also actively regulate cellular processes such as osteoblast proliferation and inflammation. This review evaluates recent advances in HAp–GS–CS-based composite systems, focusing on their design, structure, and biological performance.

Keywords: Hydroxyapatite, Glucosamine, Chondroitin sulfate, Nanocomposite

1. Giriş

Kemik dokusu, belirli bir düzeye kadar kendi kendini onarma kapasitesine sahip dinamik bir yapıdır. Ancak travma, tümör veya osteoartrit gibi durumlar sonucu oluşan büyük kemik defektleri, doğal iyileşme kapasitesinin yetersiz kalmasına neden olmakta ve önemli klinik zorluklar oluşturmaktadır (1). Bu durum, kemik rejenerasyonunu destekleyecek alternatif tedavi stratejilerine olan ilgiyi artırmış ve özellikle doku mühendisliği yaklaşımlarını ön plana çıkarmıştır.

Kemik doku mühendisliği, hasarlı kemiğin yenilenmesini destekleyen biyoyumlu üç boyutlu (3D) iskelelerin geliştirilmesine odaklanmaktadır. Bu alandaki temel yaklaşımlardan biri, doğal kemiğin yapısal, kimyasal ve biyolojik özelliklerini taklit eden biyomimetik malzemelerin tasarlanmasıdır. Doğal kemik dokusu; kolajen ve glikozaminoglikanlardan oluşan organik bir matris ile inorganik mineral fazın birleşiminden oluşan kompleks bir nanokompozit yapı sergiler. Bu nedenle, kemiğin mineral bileşenine kimyasal olarak benzeyen biyoseramikler, kemik rejenerasyonu çalışmalarında önemli bir yer edinmiştir.

Bu biyoseramikler arasında hidroksiapatit (HAp), yaklaşık 1,67 Ca/P molar oranına sahip kristal yapısı sayesinde kemik ve dişlerin mineral fazına yüksek derecede benzerlik göstermektedir. Mükemmel biyoyumluluğu, biyoaktivitesi ve osteokondüktif özellikleri nedeniyle HAp; kemik rejenerasyonu, implant kaplamaları ve ilaç taşıma sistemleri gibi birçok biyomedikal uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (2,3). Bununla birlikte, saf HAp'nin kırılma yapısı ve düşük mekanik dayanımı, tek başına kullanımını sınırlamaktadır. Bu sınırlamaları aşmak amacıyla, HAp'nin farklı polimerlerle birleştirildiği kompozit sistemler geliştirilmiş ve böylece biyolojik aktivite korunurken mekanik performans artırılması hedeflenmiştir.

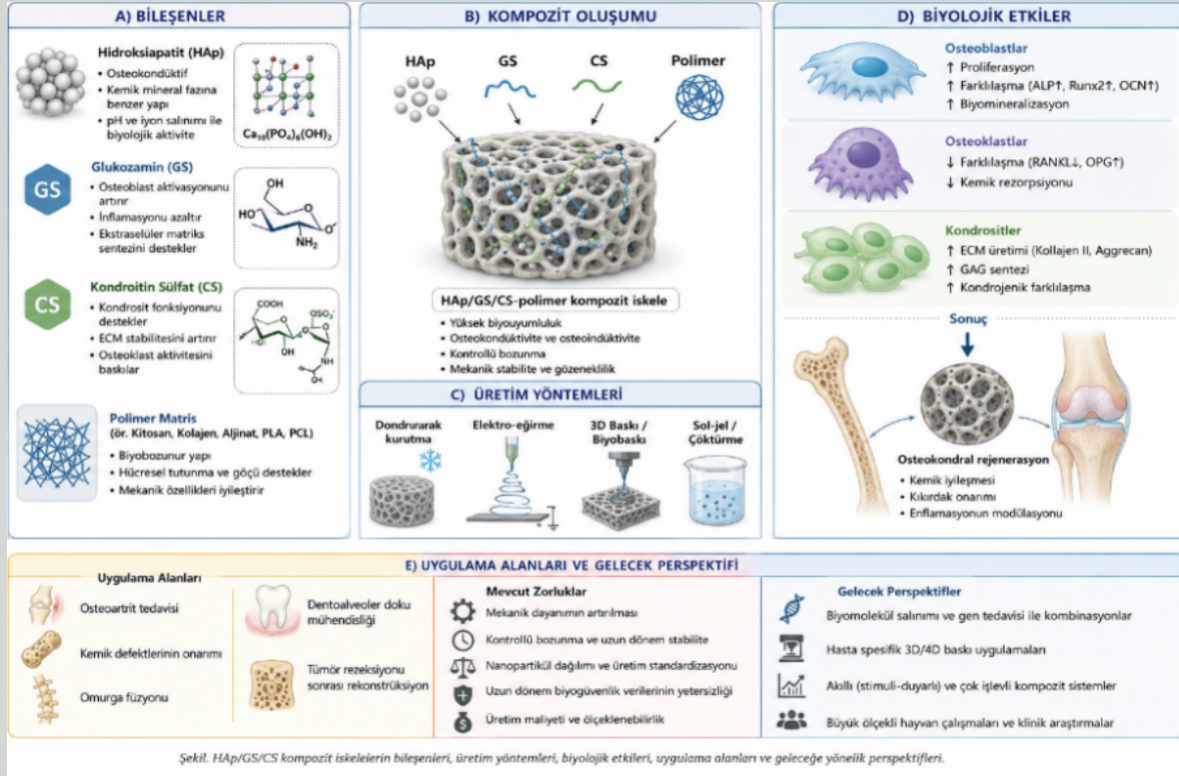
HAp üretiminde kullanılan sentez yöntemleri arasında kimyasal çöktürme yöntemi, basitliği ve maliyet etkinliği nedeniyle en yaygın tercih edilen yöntemlerden biridir (4). Sentez sırasında sıcaklık, pH ve reaksiyon süresi gibi parametreler; oluşan kristallerin boyutunu, morfolojisini ve yüzey özelliklerini doğrudan etkileyerek biyolojik performans üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Ayrıca son yıllarda, balık kemikleri

ve deniz kabukları gibi doğal kaynaklardan elde edilen HAp yapılarında bulunan magnezyum, karbonat ve silikat gibi eser iyonların osteoblast aktivitesini artırdığı ve kemik oluşumunu desteklediği bildirilmiştir (5,6). Bu bulgular, biyomimetik özelliklerin geliştirilmesinde doğal kaynaklı HAp kullanımına olan ilgiyi artırmıştır.

HAp'nin mekanik ve biyolojik özelliklerini daha da geliştirmek amacıyla, sentetik ve doğal polimerlerle oluşturulan hibrit kompozit sistemler üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmektedir. Poli(ε-kaprolakton) (PCL) ve polilaktik asit (PLA) gibi sentetik polimerler mekanik dayanım ve kontrollü bozunma özellikleri sağlarken; kolajen, kitosan ve aljinat gibi doğal polimerler hücresel etkileşimler açısından avantaj sunmaktadır (7). Özellikle kitosan; biyoyumluluğu, biyobozunabilirliği ve antibakteriyel özellikleri sayesinde kemik ve kırıldak doku mühendisliği uygulamalarında dikkat çekmektedir. HAp ile doğal polimerlerin bir araya getirildiği bu hibrit yapılar, doğal kemik dokusunu daha başarılı şekilde taklit eden iskelelerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Bunun yanında, hücre dışı matrisin temel bileşenlerinden olan glukozamin (GS) ve kondroitin sülfat (CS) da kemik ve kırıldak metabolizmasındaki rolleri nedeniyle giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Glukozamin, glikozaminoglikan sentezi için öncü molekül olarak görev yaparken; kondroitin sülfat hücre dışı matris bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunmaktadır. Bu iki bileşenin birlikte kullanımının osteoblast aktivitesini artırdığı, osteoklast farklılaşmasını ise baskıladığı ve böylece kemik oluşumunu destekleyen bir mikroçevre oluşturduğu bildirilmiştir (8). Bu nedenle GS ve CS'nin, HAp/polimer esaslı doku mühendisliği sistemlerine entegre edilmesi, kemik rejenerasyon kapasitesini artıracak umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

Bu derlemede PubMed, Scopus ve Web of Science veri tabanlarında yayımlanan güncel çalışmalar incelenmiş; hidroksiapatit, glukozamin, kondroitin sülfat, kemik doku mühendisliği ve osteokondral rejenerasyon anahtar kelimeleri kullanılmıştır. Özellikle son 10 yılda yayımlanan deneysel ve klinik çalışmalar değerlendirmeye alınmıştır.



Şekil 1. HAp/GS/CS kompozit iskelelerin bileşenleri, üretim yöntemleri, biyolojik etkileri, uygulama alanları

2. Hidroksiapatit–Glukozamin–Kondroitin Sülfat

2.1. Sentez ve Özellikleri

Kemik doku mühendisliğinde geliştirilen biyomimetik sistemlerde, yalnızca biyoyumlu bir yapı oluşturmak değil, aynı zamanda doğal kemik oluşum mekanizmalarını taklit edebilmek de büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, hidroksiapatit (HAp) sentezinde biyolojik makromoleküllerin kullanımı son yıllarda dikkat çekmiştir. Özellikle kondroitin sülfat (CS), yapısında bulunan sülfat ve karboksilat grupları sayesinde yüksek negatif yük yoğunluğuna sahip olup inorganik katyonları bağlayabilmektedir. Bu özellik, HAp kristallerinin çekirdeklenmesi ve büyümesi sırasında yönlendirici bir rol üstlenmesini sağlamaktadır (9). Böylece CS, yalnızca biyolojik

bir bileşen değil, aynı zamanda biyomimetik mineralizasyon sürecini kontrol eden aktif bir yapı taşı olarak değerlendirilmektedir.

CS'nin bu yönlendirici etkisi, özellikle kitosan temelli kompozit sistemlerde daha belirgin hale gelmektedir. Kitosan-kondroitin sülfat/hidroksiapatit (Kitosan-CS/HAp) kompozitleri; dondurarak kurutma, çöktürme ve in situ sentez gibi yöntemlerle üretilmektedir. Bu sistemlerde, kitosanın pozitif yüklü amin grupları ile CS'nin negatif yüklü fonksiyonel grupları arasında oluşan elektrostatik etkileşimler, HAp nanopartiküllerinin organik matris içerisinde homojen şekilde dağılmasını sağlamaktadır (10). Bu homojen dağılım, yalnızca yapısal bütünlüğü artırmakla kalmamakta, aynı zamanda hücresel etkileşimler açısından daha uygun bir mikroçevre oluşturmaktadır.

Benzer şekilde glukozamin (GS) de kemik ve kırıkta rejenerasyonunda önemli biyolojik işlevlere sahip bir molekül olarak öne çıkmaktadır. Glukozamin; kondroitin sülfat ve hyaluronik asit gibi kompleks glikozaminoglikanların sentezi için temel biyokimyasal öncül olan doğal bir amino monosakkarittir (11,12). Ancak GS'nin rolü yalnızca yapısal bileşen oluşumuyla sınırlı değildir. Yapılan çalışmalar hücresel proteinleri modifiye ederek osteoklast farklılaşmasını baskılayabildiğini ve böylece kemik yıkımını azaltabildiğini göstermektedir (13). Bu nedenle GS, yalnızca destekleyici bir biyomolekül değil, aynı zamanda kemik metabolizmasını düzenleyen terapötik bir ajan olarak değerlendirilmektedir.

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, doğal veya sentetik polimerleri içeren çok sayıda HAp bazlı kompozit sistemin geliştirildiğini göstermektedir. Bu sistemlerde kullanılan üretim yöntemleri, malzeme bileşimi ve biyolojik performanslar büyük çeşitlilik göstermektedir. Özellikle biyomimetik sentez, elektro-eğirme, liyofilizasyon ve 3D baskı gibi teknikler sayesinde osteokondral uygulamalara yönelik çok katmanlı ve fonksiyonel yapılar elde edilmektedir. Literatürde bildirilen bu çalışmaların genel özeti Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kemik ve Kırıkta Doku Mühendisliğinde Kullanılan Hidroksiapatit Esaslı Biyomimetik Kompozitlerin Üretim Yöntemleri ve Hücresel Yanıtları

Materyal Bileşimi	Üretim Yöntemi	Biyoyararlanım	Kaynak
Kolajen, nano-hidroksiapatit (nHAp)	Çift katmanlı iskele üretimi	Tavşan dizinde osteokondral defekt onarımını, kolajen I ve II pozitif hücre alanlarını artırır.	(14)
Kolajen, nano-hidroksiapatit, glikozaminoglikan	Kendi düzenleyen sentez	kendini biyomimetik Spinal füzyon uygulamalarında kemik hücreleri organizasyonu sağlar.	(9)
Mg, Zn, Li, Sr, B gibi iyon katkılı HAp türevleri	İyon katkılama baskı	ve 3D Yüksek biyoyumluluk, kırıkta iyileşmesi	(15)
Kitosan, kalsiyum fosfat	Porlu (gözenekli) eldesi	iskele Mezenkimal kök hücrelerin (MSC) tutunmasını, çoğalmasını ve kırıkta oluşumunu uyarır.	(16)
Heparin/heparan sülfat (GAG) türevleri (dp10, dp12, dp14 oligosakkaritler) + BMP-2 + PCL (polikaprolakton) kopolimerler	Elektroeğirme	Kemik rejenerasyonu için gelişmiş biyoaktif iskele platformu	(17)
Kitosan, kondroitin sülfat, doğal HAp	Çift polisakkaritli (in situ) nanohibrit sentez	Kemik doku mühendisliği için artırılmış biyoyumluluk sunar.	(18)

Hidroksiapatit, kondroitin sülfat	Tiyol/amin gruplarıyla fonksiyonelleştirme	Oksidatif stresi hafifletirken sinerjik kemik doku rejenerasyonu sağlar.	(19)
β -trikalsiyum fosfat (β -TCP)	3D baskı	İskeletin biyolojik yanıtını ve yeni kemik oluşumu kapasitesini artırır.	(20)
Balık pulu kolajeni, oksitlenmiş kondroitin sülfat, PEGDA	Enjekte edilebilir, katmanlı hidrojel fotokürleme	çift ve Osteokondral defekt onarımını yüksek mekanik stabilite ile destekler.	(21)
Kitosan, amilopektin, kondroitin sülfat, doğal HAp	Dondurarak kurutma	MG-63 hücrelerinde yüksek çoğalma, ALP aktivitesi ve tip-1 kolajen üretimi sağlar.	(22)
Hidroksiapatit, kitin, kitosan, hipofiz ekstraktı	İskele şekillendirme ekstrakt katkısı	ve Eklem kondrositlerinin kondrogenezini indükler.	(23)
Kondroitin sülfat, hiyalüronik asit, metakrilat	PolyHIPE tekniği ile monolitik iskele eldesi	ile In vitro ortamda kemik ve kırıkta gelişimini destekler.	(24)
Kondroitin sülfat	Elektro-eğirme ile gözenekli nanofiber	3D ACAN ve COL2 ekspresyonunu artırır, immünosupresif etki ile kırıkta yenilenmesini hızlandırır.	(25)
Hidroksiapatit, kondroitin sülfat	Kondroitin sülfat şablon aracılı biyomimetik sentez	Doğal kemiğe benzeyen nano-pul hidroksiapatit kristalleri oluşumu sağlar.	(26)
Glukozamin, hiyalüronik asit metakrilat (HAMA)	Kompozit 3D baskı ve fotokürleme	Yük taşıyan osteokondral bölgelerin rejenerasyonu için stabil ortam sunar.	(27)
Kitosan, kondroitin sülfat, nano-biyocam veya nano-SiO ₂	Liyofilizasyon kompozit sentezi	bazlı Biyomineralizasyonu ve hücre tutunmasını güçlü oranda artırır.	(28)
Kitosan, nano-hidroksiapatit	Çift katmanlı (bi-layered) iskele tasarımı	Keçi kemik iliği stromal hücreleri tohumlandığında güçlü doku iskeleti sağlar.	(29)
Kolajen (Tip II ve demineralize matriks), hidroksiapatit	Kompozit şekillendirme	Tavşan kırıkta defektlerinin hücresel onarımını iyileştirir. diz eklemine	(30)
Kitin, kitosan, hidroksiapatit	Genipin bağlama ile çapraz	Sığır diz kondrositleri için uzun süreli ve stabil in vitro kültür imkanı sunar.	(31)

Aljinat, kitosan, kolajen, hidroksiapatit	Elektro-eğirme	Hücre dışı matris görevi görerek hücrelerin doğal formunda gelişmesini sağlar.	(32)	
Kitosan, aljinat, hidroksiapatit	3D baskı	Kıkırdak onarımı için yüksek hücre canlılığına sahip hibrit platform oluşturur.	(33)	
Jelatin, kitosan, sıgır kemiğinden elde edilen HAp	Basit sentezi ve karışımı	hidroksiapatit ve kompozit	Doku mühendisliğinde kullanılmak üzere hücre toksisitesi içermeyen temel oluşturur.	(34)
Kitosan, hidroksiapatit, poli-L lizin	Yüzey modifikasyonu	MC3T3-E1 preosteoblast canlılığını ve osteojenik aktiviteyi destekler.	(35)	
Hidroksiapatit, kitosan	Çift katmanlı sentez	Osteokondral doku mühendisliği için keçi iliği hücrelerinin farklılaşmasına olanak tanır.	(36)	
Hidroksiapatit, kitosan, kondroitin sülfat	İnorganik-organik kompozit eldesi	Sitotoksosite testleri ve kemik ikamesi olarak yüksek uyum gösterir.	(37)	

Tablo 1 incelendiğinde, çalışmaların büyük çoğunluğunun biyomimetik ve hibrit iskele tasarımlarına odaklandığı görülmektedir. Bununla birlikte, özellikle osteokondral doku mühendisliği uygulamalarında 3D baskı teknolojileri ve çok katmanlı yapıların giderek daha fazla tercih edildiği dikkat çekmektedir. Ayrıca GS ve CS'nin kompozit yapılara entegrasyonunun; hücre tutunması, proliferasyon, osteojenik farklılaşma ve biyomineralizasyon üzerinde olumlu etkiler sağladığı ve bu bileşenlerin kemik rejenerasyonu açısından önemli biyolojik avantajlar sunduğu bildirilmektedir.

2.2. Yapısal, Morfolojik ve Mekanik Özellikler

HAp bazlı kompozit sistemlerin biyolojik performansı yalnızca kimyasal bileşimlerine değil, aynı zamanda morfolojik ve mekanik özelliklerine de doğrudan bağlıdır. Bu nedenle sentez parametreleri ve kullanılan biyopolimerlerin, oluşan kristal yapısı üzerindeki etkileri ayrıntılı şekilde araştırılmaktadır. Özellikle kondroitin sülfatın konsantrasyonu,

HAp kristallerinin morfolojisini belirleyen temel faktörlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Düşük CS konsantrasyonlarında kısa lif benzeri HAp kristalleri oluşurken, yüksek CS konsantrasyonlarında nanopul benzeri kristal yapılar elde edilmektedir (26). Bu durum, CS'nin mineralizasyon sürecini yalnızca başlatmadığını, aynı zamanda kristal büyümesini yönlendirdiğini göstermektedir.

Morfolojik değişimlerin yanı sıra, kompozitlerin gözenek yapısı da kemik rejenerasyonu açısından kritik öneme sahiptir. Kitosan-CS/HAp iskelelerinin mikro ve makro boyutlarda birbirine bağlı gözenekli yapı sergilediği ve bu sayede hücre göçü, besin transferi ve doku içi vaskülarizasyonu desteklediği bildirilmektedir. Ayrıca kompozite CS eklenmesiyle birlikte, saf kitosan iskelelere kıyasla şişme kapasitesinin azaldığı ancak termal stabilitenin arttığı gözlemlenmiştir (22). Bu sonuçlar, CS'nin yalnızca biyolojik değil, aynı zamanda fiziksel ve yapısal özellikler üzerinde de belirleyici rol oynadığını göstermektedir.

Kemik doku mühendisliği uygulamalarında bir diğer önemli kriter ise mekanik dayanımdır. Geliştirilen iskelelerin, doğal kemiğin yük taşıma kapasitesine belirli ölçüde yaklaşabilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, kitosan:CS:HAp ağırlık oranının 35:5:60 olduğu sistemlerde basma dayanımının 2.69–7.62 MPa arasında değiştiği rapor edilmiştir. Elde edilen bu değerlerin süngerimsi kemik ikamesi için gerekli standartları karşıladığı belirtilmektedir. Ayrıca HAp veya nano-HAp katkısının elastik modülü ve genel mekanik stabiliteyi önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (38). Böylece organik ve inorganik fazların birlikte kullanımıyla hem biyolojik hem de mekanik açıdan daha dengeli kompozit sistemler elde edilebilmektedir.

2.3. Biyolojik ve Terapötik Özellikler

HAp temelli kompozit sistemlerin başarısı yalnızca yapısal uygunluklarına değil, aynı zamanda hücresel düzeyde oluşturdıkları biyolojik yanıtı da bağlıdır. Bu nedenle son yıllarda, glukozamin (GS) ve kondroitin sülfatın (CS) osteojenik ve terapötik etkileri üzerine yoğun çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Özellikle GL ve CS'nin birlikte kullanılması durumunda ortaya çıkan sinerjik etkinin, hücresel biyouyumluluk ve kemik rejenerasyonu açısından önemli avantajlar sağladığı bildirilmektedir (27).

Bu sinerjik etkinin temelinde, GS ve CS'nin kemik metabolizmasını farklı mekanizmalar üzerinden düzenlemesi yer almaktadır. Kwan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kondroitin sülfat ve glukozamin sülfatın birlikte kullanımının osteoartritli kemik osteoblastlarının pro-rezorptif özelliklerini belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir (39). Bunun yanında, bu

kombinasyonun alkalın fosfataz (ALP) aktivitesini ve tip I kollajen üretimini artırarak biyomineralizasyon sürecini hızlandırdığı bildirilmiştir. Bulgular, GS-CS bazlı kompozitlerin yalnızca pasif destek materyalleri olmadığını; aksine osteojenik farklılaşmayı aktif biçimde yönlendiren biyofonksiyonel sistemler olduğunu ortaya koymaktadır.

Osteojenik etkilerinin yanı sıra, CS'nin inflamatuvar yanıtları baskılayıcı özellik gösterdiği ve böylece doku rejenerasyon sürecine çift yönlü katkı sağladığı belirtilmektedir (40). Bu durum özellikle osteoartrit gibi inflamasyon temelli hastalıklarda önem taşımaktadır. Nitekim glukozamin ve kondroitin sülfatın biyolojik ve klinik etkileri; in vitro çalışmalar, klinik deneyler ve meta-analizler aracılığıyla kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir. Literatürde yer alan bu çalışmaların özeti Tablo 2'de sunulmuştur. Çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, GS ve CS'nin inflamasyonu azaltma, kemik rezorpsiyonunu baskılama ve kırık-dök-kemik rejenerasyonunu destekleme açısından olumlu etkiler gösterdiği görülmektedir. Özellikle osteoartrit tedavisine yönelik klinik çalışmalarda, bu moleküllerin kombine kullanımının semptomatik rahatlama sağladığı ve bazı durumlarda yapısal iyileşmeye katkıda bulunduğu bildirilmiştir (41–45). Bununla birlikte, klinik sonuçlar arasındaki farklılıklar; doz, uygulama süresi, hasta grubu ve formülasyon farklılıklarından kaynaklanabilmekte olup standartlaştırılmış protokollere olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Buna rağmen mevcut bulgular, GS ve CS içeren biyomimetik kompozitlerin kemik ve osteokondral doku mühendisliği uygulamaları için umut verici biyomalzemeler arasında yer aldığını göstermektedir.

Tablo 2. Glukozamin ve Kondroitin Sülfat Kombinasyonlarının Osteoartrit ve Kemik Rezorpsiyonu Üzerindeki Etkinliği

Çalışma Konusu / Türü	Biyoyararlanım	Kaynak
İnsan osteoartritik subkondral kemik osteoblastları üzerinde in vitro temel bilim çalışması	Kondroitin ve glukozamin sülfatın kombine kullanımı, insan osteoartritli kemik osteoblastlarının pro-rezorptif özelliklerini sinerjik olarak azaltır.	(40)
Glukozamin/Kondroitin Artrit Müdahale Deneyi (GAIT) - Klinik Deney	Ağrılı diz osteoarriti olan hastalarda kondroitin sülfat ve glukozaminin tek başına veya kombinasyon halinde kullanımının semptomatik rahatlama sağladığı, özellikle orta-şiddetli ağrısı olanlarda kombine kullanımın semptomlar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.	(41)
Diz osteoarriti ilerlemesi üzerine klinik takip raporu (GAIT)	Glukozamin ve/veya kondroitin sülfatın diz osteoarritinin progresyonu üzerindeki etkilerini incelemiş ve n hastalığın gidişatını nasıl değiştirebileceğini değerlendirmiştir.	(42)
İnsanlarda farmakokinetik analiz	Glukozamin ve kondroitin sülfatın ayrı ayrı veya kombinasyon halinde ağızdan alınmasının farmakokinetik profillerini ortaya koymuştur.	(43)
Sistemik kalite değerlendirmesi ve meta-analiz	Osteoartrit tedavisinde glukozamin ve kondroitin sülfat kullanımına dair yapılan randomize klinik denemeleri incelemiştir.	(44)
Kapsamlı meta-analiz	Diz osteoartrisinde glukozamin ve kondroitinin sadece semptomları hafifletmekle kalmayıp yapısal etkinliği istatistiksel olarak açıklanmıştır	(45)
Derleme çalışması	Osteoartrit semptomlarının tedavisinde glukozamin ve kondroitinin etkinliğine dair veriler analiz edilmiştir.	(46)

Literatürde bildirilen çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, HAp bazlı kompozit sistemlerin biyolojik performans açısından umut verici sonuçlar sunduğu görülmektedir. Bununla birlikte, kullanılan kompozit bileşenleri ve üretim yöntemleri arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin, kolajen ve glikozaminoglikan içeren sistemler doğal hücre dışı matrise yüksek biyolojik benzerlik göstermeleri nedeniyle hücre tutunması ve doku entegrasyonu açısından avantaj sağlarken, düşük mekanik dayanımları nedeniyle yük taşıyan bölgelerde sınırlı kullanım potansiyeline sahiptir (9,14). Buna karşılık PCL ve PLA gibi sentetik polimerlerle desteklenen kompozitler daha yüksek mekanik stabilite sunmakta, ancak biyolojik etkileşim açısından doğal polimerlere kıyasla daha düşük hücresel yanıt oluşturmaktadır (7).

Benzer şekilde, kitosan temelli kompozitler biyouyumluluk, biyobozunabilirlik ve antibakteriyel özellikleri sayesinde kemik doku mühendisliği için önemli avantajlar sunmaktadır. Ancak kitosanın yüksek hidrofilik yapısı ve düşük mekanik dayanımı, tek başına kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle HAp ve CS ile oluşturulan hibrit sistemlerin hem mekanik dayanımı hem de osteojenik aktiviteyi artırdığı bildirilmektedir (18,22,37). Özellikle nano-HAp içeren sistemlerin hücre proliferasyonu ve biyomineralizasyon üzerinde olumlu etkiler göstermesi, bu yapıların osteokondral uygulamalar açısından dikkat çekici olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, nanopartikül dağılımının homojen şekilde kontrol edilememesi ve uzun dönem bozunma davranışlarının tam olarak açıklanamamış olması önemli sınırlılıklar arasında yer almaktadır.

Üretim yöntemleri açısından değerlendirildiğinde ise, dondurarak kurutma ve elektro-eğirme teknikleri yüksek gözeneklilik ve hücre infiltrasyonu açısından avantaj sağlarken, mekanik dayanımın düşük kalması önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. Buna karşın 3D baskı teknolojileri, gözenek mimarisinin kontrollü şekilde tasarlanabilmesine olanak sağlayarak hasta spesifik iskele üretimi açısından önemli bir potansiyel sunmaktadır (15,20,27,33). Ancak 3D baskı uygulamalarında biyomalzemelerin baskılanabilirlik özellikleri, üretim maliyeti ve ölçeklenebilirlik gibi

teknik sorunlar halen tam anlamıyla çözülebilmemiş değildir. Bu durum, laboratuvar ortamında başarılı sonuçlar veren birçok sistemin klinik uygulamaya aktarılmasını sınırlandırmaktadır.

GS ve CS içeren sistemlerin biyolojik etkileri değerlendirildiğinde, bu moleküllerin inflamasyonu baskılama, osteoblast aktivitesini artırma ve osteoklast farklılaşmasını azaltma gibi çok yönlü etkiler gösterdiği anlaşılmaktadır (39,40). Bununla birlikte, klinik çalışmalarda bildirilen sonuçların her zaman tutarlı olmadığı görülmektedir. Bazı çalışmalarda semptomatik iyileşme ve yapısal koruyucu etkiler bildirilirken, bazı meta-analizlerde etkinliğin sınırlı düzeyde olduğu ifade edilmiştir (41–45). Bu farklılıkların; kullanılan doz, uygulama süresi, hasta popülasyonu ve biyomalzeme formülasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla mevcut veriler umut verici olsa da, GS-CS temelli kompozitlerin klinik etkinliğinin net olarak ortaya konabilmesi için standardize edilmiş, uzun süreli ve geniş ölçekli klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, HAp/GS/CS temelli biyomimetik kompozitler kemik ve osteokondral doku mühendisliği açısından yüksek potansiyel taşımaktadır. Ancak mevcut çalışmaların büyük çoğunluğu in vitro veya hayvan modeli düzeyinde kalmakta olup klinik translasyon aşamasında önemli boşluklar bulunmaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmaların; uzun dönem biyogüvenlik, mekanik dayanımın optimize edilmesi, kontrollü bozunma kinetiği ve hasta spesifik üretim stratejilerine odaklanması, bu biyomalzemelerin klinik uygulamaya aktarılmasını hızlandırabilir.

3. Gelecek Perspektifleri

Bu derleme, glukozamin (GS) ve kondroitin sülfat (CS) ile fonksiyonelleştirilmiş hidroksiapatit (HAp) ve polimer bazlı kompozitlerin, kemik doku mühendisliği açısından yüksek biyolojik potansiyele sahip çok işlevli biyomalzemeler olduğunu ortaya koymaktadır. İncelenen çalışmalar, bu sistemlerin osteoblast proliferasyonunu ve biyomineralizasyonu desteklediğini, aynı zamanda inflamatuvar yanıtları düzenleyerek osteokondral rejenerasyon için uygun bir mikroçevre oluşturduğunu göstermektedir. Özellikle

GS ve CS'nin birlikte kullanıldığı kompozitlerde, osteojenik farklılaşmanın artması ve osteoklast aktivitesinin baskılanması, bu biyomoleküllerin yalnızca yapısal katkı sağlamadığını, aynı zamanda aktif biyolojik düzenleyici olarak görev yaptığını göstermektedir. Bunun yanında, HAp'nin doğal kemik mineral fazına benzerliği ile kitosan, kolajen ve aljinat gibi polimerlerin hücrel etkileşim avantajlarının bir araya getirilmesi, doğal kemik ve kırık dokusunu taklit eden biyomimetik sistemlerin geliştirilmesine önemli katkı sağlamaktadır.

Bununla birlikte, mevcut çalışmaların büyük kısmı laboratuvar ölçeğinde in vitro veya küçük hayvan modeli düzeyinde kalmakta olup klinik uygulamaya geçiş açısından önemli sınırlılıklar bulunmaktadır. Özellikle kompozitlerin mekanik dayanımının yük taşıyan kemik dokuları için yeterli seviyeye ulaştırılması, kontrollü bozunma kinetiğinin sağlanması ve biyolojik etkinliğin uzun süre korunabilmesi halen temel araştırma alanları arasında yer almaktadır. Ayrıca nanopartikül dağılımı, gözenek mimarisi ve polimer-HAp arayüz etkileşimlerinin üretimden üretime değişiklik gösterebilmesi, ürün standardizasyonunu zorlaştırmaktadır. Bu durum, biyomalzemelerin endüstriyel ölçekte üretilebilirliği ve kalite kontrol süreçleri açısından önemli bir engel oluşturmaktadır. Özellikle 3D baskı ve biyobaskı teknolojileri hasta spesifik implant üretimi açısından büyük avantaj sunsa da, baskılanabilir biyomürekkep geliştirilmesi, sterilizasyon süreçleri ve üretim maliyetleri gibi konular halen optimize edilmesi gereken başlıca alanlardır.

Klinik translasyon açısından değerlendirildiğinde ise, uzun dönem biyogüvenlik verilerinin sınırlı olması dikkat çekmektedir. Mevcut çalışmalar çoğunlukla kısa süreli biyouyumluluk ve hücrel yanıt analizlerine odaklanırken, kronik inflamasyon, uzun dönem bozunma ürünlerinin biyolojik etkileri ve implantların vücut içindeki stabilitesi yeterince açıklanamamıştır. Ayrıca GS ve CS'nin kontrollü salınım profilleri ile farklı doz kombinasyonlarının osteokondral iyileşme üzerindeki etkileri konusunda standartlaşmış protokoller bulunmamaktadır. Bu nedenle gelecekte yapılacak çalışmaların; uzun süreli in vivo modeller, büyük ölçekli hayvan çalışmaları ve randomize klinik araştırmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, GS/CS yüklü HAp-polimer kompozitleri kemik ve osteokondral doku mühendisliği için güçlü bir aday biyomalzeme grubu olarak öne çıkmaktadır. Ancak bu sistemlerin klinik uygulamaya başarıyla aktarılabilmesi için yalnızca biyolojik performanslarının değil; üretim ölçeklenebilirliği, mekanik güvenilirlik, standardizasyon, sterilizasyon uyumluluğu ve uzun dönem biyogüvenlik gibi translasyonel parametrelerin de kapsamlı biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda multidisipliner çalışmaların artırılması, biyomalzemelerin laboratuvarından klinik kullanıma taşınmasında kritik rol oynayacaktır.

Teşekkür: Tüm yazarlar makalenin yazımında, gözden geçirilmesinde ve düzenlenmesinde yer almış ve yayınlanan versiyonun onaylanmasından nihai olarak sorumlu olmuştur. Çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komitesi tarafından TYL-2024- 11290 numaralı proje kapsamında mali olarak desteklenmiştir.

Çıkar çatışması beyanı: Yazarlar makalede herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir

Kaynaklar

1. Wang B, Liu W, Xing D, Li R, Lv C, Li Y. et al. Injectable nanohydroxyapatite-chitosan-gelatin micro-scaffolds induce regeneration of knee subchondral bone lesions. *Scientific reports*. 2017;7(1):16709.
2. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Totbid Dergisi*. 2004;3:3-4.
3. Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates as bioceramics: state of the art. *Journal of functional biomaterials*. 2010;1(1):22-107. DOI: 10.3390/jfb1010022
4. Kawsar M, Hossain M S, Alam MK, Bahadur NM, Shaikh MAA., Ahmed S.. Synthesis of pure and doped nano-calcium phosphates using different conventional methods for biomedical applications: A review. *Journal of Materials Chemistry B*. 2024;12(14):3376-3391 DOI: 10.1039/D3TB02846A
5. Komur B, Altun E, Aydogdu M, Bilgiç D, Gokce H, Ekren N, et al. Hydroxyapatite synthesis from fish bones: Atlantic salmon (Salmon Salar). *Acta Physica Polonica A*. 2017;131.3:400-402. DOI: 10.12693/aphyspola.131.400
6. Hussin MSF, Abdullah HZ, Idris MI, Wahap MAA. Extraction of natural hydroxyapatite for biomedical applications-A review. *Heliyon*. 2022;8(8). DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10356
7. Elkhenany H, Soliman MW, Atta D, El-Badri N. Innovative marine-sourced hydroxyapatite, Chitosan, collagen, and gelatin for eco-friendly bone and cartilage regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2025;113(1):e37833. DOI: 10.1002/jbm.a.37833
8. Vasiliadis HS, Tsikopoulos K. Glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis. *World journal of orthopedics*. 2017;8(1):1. DOI:10.5312/wjo.v8.i1.1
9. Sharma A, Brand D, Fairbank J, Ye H, Lavy C, Czernuszka J. A self-organising biomimetic collagen/nano-hydroxyapatite-glycosaminoglycan scaffold for spinal fusion. *Journal of materials science*. 2017;52(21):12574-12592. DOI: 10.1007/s10853-017-1229-9
10. He D, Xiao X, Liu F, Liu R. Chondroitin sulfate template-mediated biomimetic synthesis of nano-flake hydroxyapatite. *Applied surface science*. 2008;255(2):361-364. DOI: 10.1016/j.apsusc.2008.06.151
11. Abourehab MA, Baisakhiya S, Aggarwal A, Singh A, Abdelgawad MA, Deepak A, et al. Chondroitin sulfate-based composites: a tour d'horizon of their biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*. 2022;10(44):9125-9178.
12. Sikkema R, Keohan B, Zhitomirsky I. Hyaluronic-acid-based organic-inorganic composites for biomedical applications. *Materials*. 2021;14(17):4982.
13. Igarashi M, Kaga I, Takamori Y, Sakamoto K, Miyazawa K, Nagaoka I. Effects of glucosamine derivatives and uronic acids on the production of glycosaminoglycans by human synovial cells and chondrocytes. *International journal of molecular medicine*. 2011; 27(6):821-827.
14. Guo Y, Peng X, Cao B, Liu Q, Li S, Chen Z, et al. A bilayer scaffold of collagen and nanohydroxyapatite promotes osteochondral defect repair in rabbit knee joints. *Bone & Joint Research*. 2025;14(2):155-165. DOI:10.1302/2046-3758.142.bjr-2024-0171.r1
15. Fendi F, Abdullah B, Suryani S, Usman AN, Tahir D. Development and application of hydroxyapatite-based scaffolds for bone tissue regeneration: A systematic literature review. *Bone*. 2024;183:117075. DOI:10.1016/j.bone.2024.117075
16. Elder S, Gottipati A, Zelenka H, Bumgardner J. Attachment, proliferation, and chondroinduction of mesenchymal stem cells on porous chitosan-calcium phosphate scaffolds. *The open orthopaedics journal*. 2013;7:275.
17. Monteiro B. Glycosaminoglycan-based scaffolds for bone repair [dissertation]. University of Sheffield;2021
18. Hu Y, Chen J, Fan T, Zhang Y, Zhao Y, Shi X, Zhang Q. Biomimetic mineralized hierarchical hybrid scaffolds based on in situ synthesis of nano-hydroxyapatite/chitosan/chondroitin sulfate/hyaluronic acid for bone tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;157:93-100. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.05.059
19. Panigrahi P, Kalita N, Mishra L, Mishra M, Gupta M, Sahoo H. Bioinspired hydroxyapatite nanoparticle: Functionalization with chondroitin sulfate-thiol/amine moieties for synergistic bone tissue regeneration and oxidative stress mitigation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025;149299. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2025.149299
20. Tian Y, Ma H, Yu X, Feng B, Yang Z, Zhang W, et al. Biological response of 3D-printed β -tricalcium phosphate bioceramic scaffolds with the hollow tube structure. *Biomedical Materials*. 2023;18(3):034102. DOI: 10.1088/1748-605X/acc374
21. Cao Y, Zhang H, Qiu M, Zheng Y, Shi X, Yang J. Biomimetic injectable and bilayered hydrogel scaffold based on collagen and chondroitin sulfate for the repair of osteochondral defects. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;257:128593. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128593
22. Venkatesan J, Pallela R, Bhatnagar I, Kim SK. Chitosan-amylopectin/hydroxyapatite and chitosan-chondroitin sulphate/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*. 2012;51(5):1033-1042. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.08.020

23. Kuo YC, Leou SN. Chondrogenesis of articular chondrocytes in hydroxyapatite/chitin/chitosan scaffolds supplemented with pituitary extract. *Engineering in Life Sciences*. 2010;10(1):65-74. DOI:10.1002/elsc.200900048
24. Behere I, Vaidya A, Ingavle G. Chondroitin sulfate and hyaluronic acid-based PolyHIPE scaffolds for improved osteogenesis and chondrogenesis in vitro. *ACS Applied Bio Materials*. 2024;7(8):5222-5236. DOI: 10.1021/acsabm.4c00393
25. Chen S, Chen W, Chen Y, Mo X, Fan C. Chondroitin sulfate modified 3D porous electrospun nanofiber scaffolds promote cartilage regeneration. *Materials Science and Engineering: C*. 2021;118:111312. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111312
26. Xiao X, He D, Liu F, Liu R. Preparation and characterization of hydroxyapatite/chondroitin sulfate composites by biomimetic synthesis. *Materials Chemistry and Physics*. 2008;112(3): 838-843. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2008.06.055
27. Liu Z, Pei J, Sheng Y, Niu T, Wu P, Liu Y, et al. Composite 3D-Printed Scaffold Based on Glucosamine-Loaded Hyaluronic Acid Methacrylate for Osteochondral Regeneration. *ACS Applied Bio Materials*. 2026;9 (3):1558-1568. DOI: 10.1021/acsabm.5c02113
28. Kavya KC, Dixit R, Jayakumar R, Nair SV, Chennazhi KP. Synthesis and characterization of chitosan/chondroitin sulfate/nano-SiO₂ composite scaffold for bone tissue engineering. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2012;8(1):149-160. DOI: 10.1166/jbn.2012.1363
29. Pitrolino KA, Felfel R M, Pellizzeri LM, McLaren J, Popov AA, Sottile et al. Development and in vitro assessment of a bi-layered chitosan-nano-hydroxyapatite osteochondral scaffold. *Carbohydrate polymers*. 2022;282:119126. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119126
30. He X, Han Q, Zhang Y, Zhang H, Liu J, Zhou X. Effect of collagen-based scaffolds with hydroxyapatite on the repair of cartilage defects in the rabbit knee joint. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2024;19(1):818. DOI: 10.1186/s13018-024-05323-5
31. Kuo YC, Lin CY. Effect of genipin-crosslinked chitin-chitosan scaffolds with hydroxyapatite modifications on the cultivation of bovine knee chondrocytes. *Biotechnology and bioengineering*. 2006;95(1):132-144. DOI:10.1002/bit.21007
32. Yu CC, Chang JJ, Lee YH, Lin YC, Wu MH, Yang MC, et al. Electrospun scaffolds composing of alginate, chitosan, collagen and hydroxyapatite for applying in bone tissue engineering. *Materials Letters*. 2013;93:133-136. DOI: 10.1016/j.matlet.2012.11.040
33. Sadeghianmaryan A, Naghieh S, Yazdanpanah Z, Sardroud HA, Sharma NK, Wilson LD, et al. Fabrication of chitosan/alginate/hydroxyapatite hybrid scaffolds using 3D printing and impregnating techniques for potential cartilage regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022;204:62-75. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.201
34. Anh NTH, Trinh TP, Tan LV, Tho NTM, Van Cuong N. Facile synthesis of hydroxyapatite from bovine bone and gelatin/chitosan-hydroxyapatite scaffold for potential tissue engineering application. *Vietnam Journal of Chemistry*. 2022;60(2):198-205. DOI: doi.org/10.1002/vjch.202100126
35. Mutlu TK, Özçınar BM, Köksal İ, Çakır R. Investigating the interaction of preosteoblast cells with poly-L lysine surface-modified chitosan/hydroxyapatite scaffolds and their potential applications in bone tissue engineering. *Process Biochemistry*. 2025;157:33-41.
36. Oliveira JM, Rodrigues MT, Silva SS, Malafaya PB, Gomes ME, Viegas C et al. Novel hydroxyapatite/chitosan bilayered scaffold for osteochondral tissue-engineering applications: Scaffold design and its performance when seeded with goat bone marrow stromal cells. *Biomaterials*. 2006;27(36):6123-6137. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.07.034
37. Han Q, Qiu M, Cui Y, Liu M. Preparation, microstructure and cytotoxicity research on hydroxyapatite/chitosan-chondroitin sulfate. *Chem. Res. J*. 2017;2(4):118-124.
38. Aminatun A, Handayani FD, Widiyanti P, Winarni D, Siswanto S. In vivo approach on femur bone regeneration of white rat (*Rattus norvegicus*) with the use of hydroxyapatite from cuttlefish bone (*Sepia spp.*) as bone filler. *Veterinary World*. 2019;12(6):809.
39. Tat SK, Pelletier JP, Vergés J, Lajeunesse D, Montell E, Fahmi, et al. Chondroitin and glucosamine sulfate in combination decrease the pro-resorptive properties of human osteoarthritis subchondral bone osteoblasts: a basic science study. *Arthritis research & therapy*. 2007; 9(6):R117. DOI:10.1186/ar2325
40. Henrotin Y, Mathy M, Sanchez C, Lambert C. Chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis: from in vitro studies to clinical recommendations. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*. 2010;2(6):335-348. DOI: 10.1177/1759720X10383076
41. Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein M A, O'Dell J R, Hooper M M, et al. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *New England Journal of Medicine*. 2006;354(8):795-808. DOI:10.1056/NEJMoa052771

42. Sawitzke AD, Shi H, Finco MF, Dunlop DD, Bingham III CO, Harris, et al. The effect of glucosamine and/or chondroitin sulfate on the progression of knee osteoarthritis: a report from the glucosamine/chondroitin arthritis intervention trial. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 2008;58(10):3183-3191. DOI: 10.1002/art.23973
43. Jackson CG, Plaas AH, Sandy JD, Hua C, Kim-Rolands S, Barnhill, et al. The human pharmacokinetics of oral ingestion of glucosamine and chondroitin sulfate taken separately or in combination. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2010;18(3):297-302. DOI: 10.1016/j.joca.2009.10.013
44. Mc Alindon TE, La Valley MP, Gulin JP, Felson DT. Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis: a systematic quality assessment and meta-analysis. *Jama*. 2000;283(11):1469-1475.
45. Richy F, Bruyere O, Ethgen O, Cucherat M, Henrotin Y, Reginster JY. Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2003;163(13):1514-1522. DOI: 10.1001/archinte.163.13.1514
46. Towheed T E, Anastassiades T P. Glucosamine and chondroitin for treating symptoms of osteoarthritis: evidence is widely touted but incomplete. *Jama*. 2000;283(11):1483-1484. DOI: 10.1001/jama.283.11.1483