



Diz osteoartritli hastalarda eklem sıvısında nitrik oksit değerleri ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri

Nitric oxide levels and superoxide dismutase enzyme activity
in synovial fluid of patients with knee osteoarthritis

Aydın Kalacı,¹ Efan Uz,² Bahadır Aslan,¹ Sadık Söğüt,³ Cenk Özkan,⁴ Ahmet Nedim Yanat¹

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; ²Biyokimya Anabilim Dalı;
³Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı;
⁴Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Amaç: Diz osteoartritli (OA) hastaların eklem sıvısında nitrik oksit (NO) düzeyi ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi araştırıldı.

Hastalar ve yöntemler: Amerikan Romatoloji Birliği OA ölçütlerine uyan 36 hasta (31 kadın, 5 erkek; ort. yaş 63; dağılım 48-88) çalışmaya alındı. Hastaların diz grafileri Kellgren-Lawrence radyografik sınıflamasına göre derecelendirildi. Sinovyal sıvı örnekleri, OA nedeniyle diz protezi veya hyaluronik asit enjeksiyonu yapılan hastalardan girişimden önce iğne aspirasyonu ile toplandı, daha sonra Eppendorf tüplerine aktararak -80 °C'de saklandı. Sinovyal sıvıdaki nitrit ve nitrat değerleri Griess reaksiyonuna dayalı spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Toplam SOD aktivitesi de spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar, diz eklemleri klinik ve radyografik olarak normal bulunan, ancak nedeni bilinmeyen diz ağrısından dolayı artroskopi uygulanan 10 hasta ile (6 kadın, 4 erkek; ort. yaş 49; dağılım 26-70) karşılaştırıldı.

Bulgular: Osteoartritli hasta grubunda NO düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek, SOD aktivitesi düşük bulundu ($p<0.001$). Kellgren-Lawrence radyografik derecelendirme grupları arasında NO ve SOD değerleri açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Sonuç: Bulgularımız NO'nun kırık yıkım mediyatörü, SOD'nin ise antioksidan mediyatör olduğunu düşündürmektedir. Bu değerlerin klinik önemini aydınlatmak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Eklem kırıkdağı; nitrik oksit; osteoartrit, diz; süperoksit dismutaz; sinovyal sıvı.

Objectives: We investigated nitric oxide (NO) levels and superoxide dismutase (SOD) enzyme activity in synovial fluid of patients with primary knee osteoarthritis (OA).

Patients and methods: The study included 36 patients (31 females, 5 males; mean age 63 years; range 48 to 88 years) with knee OA according to the diagnosis criteria of American College of Rheumatology. Radiographic severity of OA was assessed according to the Kellgren-Lawrence grading system. Synovial fluid samples were taken by needle aspiration before knee arthroplasty or hyaluronic acid injection and stored at -80 °C in Eppendorf tubes. Nitrite and nitrate levels were determined by the spectrophotometric method based on the Griess reaction. Total SOD activity was determined by the spectrophotometric method. The results were compared with those of 10 controls (6 females, 4 males; mean age 49 years; range 26 to 70 years) who clinically and radiographically had normal knees, but underwent arthroscopic examination for knee pain of unknown origin.

Results: Compared to controls, NO levels were significantly higher and SOD activity was significantly lower in patients with OA ($p<0.001$). No significant differences were found between radiographically graded groups with regard to NO level and SOD activity ($p>0.05$).

Conclusion: Our data suggest that NO acts as a potent mediator of cartilage damage and SOD as an antioxidant mediator in OA. Further studies are needed to clarify the clinical significance of these parameters.

Key words: Cartilage, articular; nitric oxide; osteoarthritis, knee; superoxide dismutase; synovial fluid.

• Geliş tarihi: 31.07.2006 Kabul tarihi: 01.12.2006

• İletişim adresi: Dr. Aydın Kalacı, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 31100 Antakya, Hatay.
Tel: 0326 - 214 86 61 Faks: 0326 - 214 49 77 e-posta: orthopedi@gmail.com

• (Kalacı, Uz, Aslan) Yrd. Doç. Dr.; (Söğüt) Doç. Dr.; (Özkan) Uzm. Dr.; (Yanat) Prof. Dr.

Osteoartritin (OA) nedeni ve tedavisi tam olarak bilinmemekle birlikte, yapım ve yıkımın bir arada bulunduğu, metabolik olarak aktif, dinamik ve çoketkenli bir hastalık olduğu söylenebilir.^[1,2]

Kondrositler, muhtemelen osmolarite değişiklikleri veya hücre membranına bağlı matriksteki zorlanmanın veya elektrik yükünün değişmesi sonucunda, doku yanıtını uyaran mediyatörler salgırlar. Kıkırdak hücreleri çeşitli kimyasal ve mekanik streslere yanıt olarak nitrik oksit (NO) üretir. Nitrik oksit ürünlerinin OA'lı eklem kıkırdağında artmış olduğu gösterilmiştir.^[3-5] Hücre dışına çıkan NO, matriks makromoleküllerini parçalayan metalloproteazların üretimini indükleyen interlökin-1 (IL-1) yapımını başlatır. Deneysel OA modellerinde, NO ürünlerinin OA'lı kıkırdaktan IL-1, IL-6, IL-8, tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve metalloproteinazlar gibi enflamatuvar mediyatörlerin sentezini uyardığı gösterilmiştir.^[6-9]

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge hücrel hemostaz için önemlidir. Yeterli süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit artıklarını toplayabilir ve NO'nun aktif bir sinyal molekülü olmasını sağlarken, SOD'nin lokal yokluğu peroksinitrit ve oksidatif ürünlerin oluşmasına yol açar.^[2] Oksidatif stresin apopitotik hücre ölümüne neden olduğu ve SOD'nin apopitozisi önlemede çok önemli rol oynadığı gösterilmiştir.^[10] İnsan ve hayvan çalışmalarında, apopitotik kondrosit sayısının OA'lı kıkırdakta normal kıkırdaktan fazla olduğu ve OA derecesiyle doğru orantılı olduğu bulunmuştur.^[11,12] Kıkırdaktaki ekstraselüler matriks kaybının apopitotik hücre sayısı ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur.^[11]

Literatürde OA derecesiyle oksidan/antioksidan düzeyleri arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar çelişkilidir. Buradan yola çıkılarak, bu çalışmada, OA'lı hastaların diz eklem sıvılarında NO düzeyi ve SOD enzim aktivitesi, diz eklemleri klinik ve radyografik olarak normal bulunan kontrol grubuyla karşılaştırıldı ve OA etyolojisinde oksidan/antioksidan dengenin rolü araştırıldı.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Amerikan Romatoloji Birliği OA ölçütlerine^[13] uyan 36 hasta (31 kadın, 5 erkek; ort. yaş 63±8; dağılım 48-88) alındı. Sinovyal sıvı örnekleri, OA nedeniyle diz protezi veya hiyaluronik asit enjeksiyonu yapılan hastalardan girişimden önce iğne aspirasyonu ile toplandı. Sino-

vyal sıvı örneklerini toplama protokolü fakültemiz etik kurulu tarafından onaylandı. Tüm hastaların direkt diz grafileri Kellgren-Lawrence^[14] radyografik sınıflamasına göre derece 2 (n=7), 3 (n=17) ve 4 (n=12) olarak sınıflandırıldı. Hastaların hiçbiri kortikosteroid, kondroprotektif ilaçlar, analjezik veya nonsteroidal anti-enflamatuvar ilaç kullanmıyordu. Romatolojik hastalığı veya aktif sinoviti olan olgular, sekonder OA'lı olgular, önceki yıllarda şiddetli diz travması geçiren hastalar, cerrahi veya artroskopik girişim geçirenler, enfeksiyon veya ateşli hastalığı olanlar, eklem içi steroid veya hiyaluronik asit tedavisi gören hastalar çalışmaya alınmadı.

Sonuçlar, nedeni bilinmeyen diz ağrısından dolayı artroskopi uygulanan (kontrol grubu) 10 hastayla (6 kadın, 4 erkek; ort. yaş 49±15; dağılım 26-70) karşılaştırıldı. Bu hastaların diz eklemleri klinik ve radyografik olarak normaldi; menisküs yırtığı, bağ yaralanması, enflamasyon veya dejeneratif kıkırdak değişikliği yoktu. Kontrol grubunun eklem sıvısı artroskopik girişimden hemen önce aspire edildi.

Biyokimyasal ölçümler

Sinovyal sıvı diz ekleminden aspire edildikten sonra Eppendorf tüplerine aktararak -80 °C'de çalışma anına kadar saklandı. Nitrik oksidin yarılanma ömrü bir kaç saniye gibi kısa bir süre olduğundan biyolojik sistemlerde tespiti çok zordur. Kısa süre içinde nitrit (NO₂⁻) ve sonrasında nitrat (NO₃⁻) okside olmaktadır. Bu yüzden, nitrit ve nitrat miktarı NO üretiminin bir indeksi olarak kullanılmaktadır. Örnekler önce Somogy ayırıcısıyla deproteinize edildi. Sinovyal sıvı nitrit ve nitrat değerlerinin belirlenmesi için Griess reaksiyonuna dayalı yöntem kullanıldı.^[15] Total nitrit (nitrit+nitrat), bakırlanmış kadmiyum granülleri tarafından nitrat, nitrite çevrildikten sonra spektrofotometrik olarak 545 nm dalga boyunda ölçüldü. Nitrik oksit düzeyi mikromol/l birimiyile belirtildi.

Total (Cu-Zn ve Mn) SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesi Sun ve ark.nın.^[16] tanımladığı spektrofotometrik yönteme göre belirlendi Reaksiyonun prensibi ksantin/ksantin oksidaz sisteminin nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyonunun inhibisyonuna dayanır. Süperoksit dismutazın 1 ünitesi enzim aktivitesinin %50'sinin inhibisyonuna neden olan NBT redüksiyon oranı olarak tanımlandı ve aktivitesi Ü/ml olarak belirlendi.

İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm verilerin normal dağılımı gözden geçirildi. Grupların parametrelerini karşılaştırmak için Mann-Whitney U-testi ve t-testi kullanıldı, $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Gruplar arasında demografik özellikler, klinik ve laboratuvar değerleri (tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein de dahil) açısından fark gözlenmedi ($p > 0.05$).

Sinovyal sıvı NO düzeyi OA hasta grubunda (115.2 ± 16.5 $\mu\text{mol/l}$) kontrol grubuyla (91.7 ± 9.8 $\mu\text{mol/l}$) karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Sinovyal sıvı SOD aktivitesi kontrol grubunda (13 ± 2.8 Ü/ml), OA grubundan (10.65 ± 4.3 Ü/ml) yüksek bulundu ($p < 0.001$).

Kellgren-Lawrence^[14] radyografik sınıflamasına göre gruplandırıldığında, derece 2 hastalarda ortalama NO değeri 115.7 ± 9.1 $\mu\text{mol/l}$, SOD enzim aktivitesi 12.3 ± 2.4 Ü/ml ; derece 3 hastalarda ortalama NO değeri 119.6 ± 17.1 $\mu\text{mol/l}$, SOD enzim aktivitesi 10.8 ± 4 Ü/ml ; derece 4 hastalarda ortalama NO değeri 108.8 ± 17.8 $\mu\text{mol/l}$, SOD enzim aktivitesi 9.4 ± 4.8 Ü/ml idi. Grupları arasında NO ve SOD değerleri açısından anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Eklem kıkırdağı mekanik yüklenmelere yapım ve yıkım şeklinde değişik yanıtlar verebilen mekanik olarak hassas bir dokudur ve kondrositler, farklı hücresel ve biyokimyasal mesajlarla zararlı veya yararlı yanıt verebilirler.^[17] Osteoartritli kondrositler strese maruz kaldıklarında kollajen ve agregan sentezinin inhibisyonuyla ilişkili olarak nitrik oksit sentetazı (NOS) indükler; böylece, kıkırdak dokuda uzun süreli kompresyonun etkisiyle hem NO hem de süperoksit üretimi artar.^[18] Kıkırdağın hem mekanik hem de sitokin uyarısı NO ve reaktif oksijen türleri (ROS) aracılığıyla oluyor gibi görünmektedir. Nitrik oksidin yüksek lokal konsantrasyonunun kollajen ve proteoglikan sentezini inhibe ettiği,^[7,19] metalloproteinazları aktive ettiği,^[6,19] diğer oksidanların zararlı etkilerine yatkınlığı artırdığı,^[20] IL-1 reseptör antagonistlerinin sentezini azalttığı,^[21] kondrosit poliferasyonunun inhibisyonuna yol açtığı^[22] ve apoptotik hücre ölümünü indükleyerek^[7,11,12,19] kondrosit fonksiyonlarına güçlü zarar

verici etkisi olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, NO fibronektinin kondrosite yapışmasını inhibe eder ve sonuçta proteoglikan sentezi azalır.^[23] Nitrik oksit sentezinin inhibisyonuyla kondrosit apoptozisi ve eklem kıkırdağı yıkımı azaltılmıştır.^[24] Birçok çalışmada OA'da sinovyal sıvı NO düzeyinin kontrol gruplarına oranla yüksek olduğu gösterilmiştir.^[13,8,9,25] Çalışmamızda da, sinovyal sıvı NO düzeyinin primer diz OA'lı hastalarda arttığını gözlemledik.

Süperoksit ve NO biyolojik sistemlerle hızlı bir reaksiyona girer, peroksinitrit ve hidroksil radikalleri içeren toksik türler üretir. Hücreler, ROS'un toksik etkilerini önlemek için antioksidan enzim sistemlerine sahiptir. Organizmada enerji üretiminin artıkları olan ROS'u temizlemek için birçok mekanizma vardır. Bunlar SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon redüktaz ve katabolik olmayan antioksidanlardır.^[2] Süperoksit dismutaz, ROS'a karşı ilk savunma hattıdır ve hidroperoksitlerin indirgemelerini katalizler; sonuçta, memeli hücrelerini oksidatif yıkıma karşı korur.^[2] Hücresel hemostaz için oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge önemlidir. Süperoksit dismutazın lokal yokluğu peroksinitrit ve diğer oksidatif türlerin oluşumuna yol açarken, yeterli SOD süperoksit artıklarını temizler ve NO'nun aktif sinyal molekülü kalmasına izin verir.^[2] Oksidatif stresin apoptotik hücre ölümünün bir nedeni olduğu ortaya konmuştur ve SOD apoptozisi önlemede çok önemli rol oynamaktadır. Süperoksit dismutaz mimetiklerinin, kollajenin neden olduğu artritte enflamasyon şiddetini düşürdüğü gösterilmiştir.^[26] Süperoksit dismutaz, mekanik güçlere karşı hem yıkım hem de enflamatuvar sitokinlere yanıt olarak oluştuğundan, aşırı süperoksit artıklarını temizleme kapasitesi ekstraselüler matriks yapısal moleküllerinin korunmasını sürdürmede önemli kontrol noktası olarak tanımlanabilir. Hidrojen peroksidin düşük değerlerinin sentezi uyardığı ve mekanik yaralanmadan sonra matriks tamirine yardımcı olduğu gösterilmesine rağmen, ekstraselüler SOD düzeyi yetersiz olduğunda oksidan/antioksidan denge okside enflamatuvar bölgeye kaymakta ve daha fazla toksik radikal oluşmaktadır.^[24]

Banford ve ark.^[27] romatoid artritli hastaların eritrosit SOD aktivitelerinde kayda değer bir azalma bildirmişlerdir. Regan ve ark.^[2] hayvan OA modelinde ve insan OA'sında SOD'de anlamlı azalma bildirmişlerdir. Başka çalışmalarda sinovyal sıvı SOD aktivitelerinde belirgin artış gözlemlenmiş-

tir.^[28-30] Sumii ve ark.^[31] romatoid artrit ve OA'lı hastaların diz eklem sıvılarında SOD enzim aktivitelelerini kontrol grubundan yüksek bulmuşlardır. Deneysel OA'nın rekombinant insan SOD'si ile tedavisi kırıldak yıkımı derecesinde kayda değer düşmeye yol açmıştır.^[32] Çalışmamızda sinovyal sıvı SOD enzim aktivitesi, primer diz OA'lı hastalarda kontrol grubundan düşük bulundu. Hücrelerdeki oksidatif stres artışına bağlı olarak, vücutta antioksidan savunma sistemleri devreye girer ve oluşan ROS'nin beklenen toksik etkilerini detoksifiye etmek için antioksidan enzimlerin üretimi başlangıçta artar. Olayın ilerleyen dönemlerinde hasar devam ettikçe, üretim bir aşamadan sonra artan tüketimi karşılayamaz hale gelir ve bu enzimlerin aktiviteleeri azalır. Bu durumun yansıması olarak, OA'nın erken evrelerinde eklem sıvısında artış gösteren SOD enzim aktivitesi, ileri dönemlerde tüketime bağlı olarak azalıyor olabilir. Çalışmalarda SOD enzim aktivitesiyle ilgili bildirilen çelişkili sonuçlar bu durumdan kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda da OA'nun derecesi arttıkça SOD enzim aktivitesinin azalması bu görüşü desteklemektedir.

Karan ve ark.^[3] derece 3 OA'da NO düzeyinin, derece 2'den yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Çalışmamızda da derece 3'te NO değerleri en yüksek seviyede iken, derece 4'te en düşüktü. En yüksek NO düzeylerinin derece 3 OA'da olmasını, bu fazın en aktif faz olmasına ve derece 4'ün sadece sekel faz olmasına bağlıyoruz. Bununla birlikte, çalışmamızda hastalar OA'nun derecesine göre gruplandırıldığında, bu gruplar arasında NO değerleri açısından anlamlı fark bulunamadı. Daha geniş hasta gruplarında OA derecesi ile NO ve SOD değerleri arasında anlamlı ilişki ortaya çıkabileceğini düşünüyoruz.

Bu çalışmada, diz OA'da belirgin şekilde NO düzeyinin arttığı ve SOD enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular NO'nun kırıldak yıkım mediyatörü olduğunu, SOD'nin antioksidan mediyatörü olduğunu düşündürmektedir. Oksidan/antioksidan dengenin antioksidanlar lehine çevrilmesi belki de OA tedavisinde yeni bir dönem anlamına gelebilir. Bu konunun klinik önemini aydınlatmak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res* 2001;3:107-13.
2. Regan E, Flannelly J, Bowler R, Tran K, Nicks M, Carbone BD, et al. Extracellular superoxide dismutase and oxidant damage in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52:3479-91.
3. Karan A, Karan MA, Vural P, Erten N, Tascioglu C, Aksoy C, et al. Synovial fluid nitric oxide levels in patients with knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 2003; 22:397-9.
4. Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1998;10:263-8.
5. St Clair EW. Nitric oxide-friend or foe in arthritis? *J Rheumatol* 1998;25:1451-3.
6. Abramson SB, Attur M, Amin AR, Clancy R. Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2001;3:535-41.
7. Henrotin YE, Bruckner P, Pujol JP. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2003;11:747-55.
8. Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, Moncada S. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1992;51:1219-22.
9. Min BH, Kim HJ, Lim H, Park CS, Park SR. Effects of ageing and arthritic disease on nitric oxide production by human articular chondrocytes. *Exp Mol Med* 2001; 33:299-302.
10. van't Hof RJ, Hocking L, Wright PK, Ralston SH. Nitric oxide is a mediator of apoptosis in the rheumatoid joint. *Rheumatology* 2000;39:1004-8.
11. Notoya K, Jovanovic DV, Reboul P, Martel-Pelletier J, Mineau F, Pelletier JP. The induction of cell death in human osteoarthritis chondrocytes by nitric oxide is related to the production of prostaglandin E2 via the induction of cyclooxygenase-2. *J Immunol* 2000;165: 3402-10.
12. Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, Coutts RD, Lotz M. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41:1266-74.
13. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum* 1986;29:1039-49.
14. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957;16:494-502.
15. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36(8 Pt 1):1440-3.
16. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34: 497-500.
17. Lippiello L, Kaye C, Neumata T, Mankin HJ. In vitro metabolic response of articular cartilage segments to low levels of hydrostatic pressure. *Connect Tissue Res* 1985;13:99-107.
18. Lee MS, Trindade MC, Ikenoue T, Schurman DJ, Goodman SB, Smith RL. Effects of shear stress on nitric

- oxide and matrix protein gene expression in human osteoarthritic chondrocytes in vitro. *J Orthop Res* 2002; 20:556-61.
19. Kobayashi K, Matsuzaka S, Yoshida Y, Miyauchi S, Wada Y, Moriya H. The effects of intraarticularly injected sodium hyaluronate on levels of intact aggrecan and nitric oxide in the joint fluid of patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12: 536-42.
 20. Clancy R, Rediske J, Koehne C, Stoyanovsky D, Amin A, Attur M, et al. Activation of stress-activated protein kinase in osteoarthritic cartilage: evidence for nitric oxide dependence. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9:294-9.
 21. Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Tardif G, Martel-Pelletier J. The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage* 1996;4:77-84.
 22. Blanco FJ, Lotz M. IL-1-induced nitric oxide inhibits chondrocyte proliferation via PGE2. *Exp Cell Res* 1995; 218:319-25.
 23. Lotz M, Hashimoto S, Kuhn K. Mechanisms of chondrocyte apoptosis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999;7:389-91.
 24. Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, Manning P, Connor JR, Currie MG, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum* 1998;41:1275-86.
 25. Yılmaz E, Yılmaz S, Karakurt L, Serin E. Osteoartritte nitrik oksit ve malondialdehit düzeyleri. *Artroplastik Artroskopik Cerrahi* 2004;15:7-11.
 26. Salvemini D, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP, et al. Amelioration of joint disease in a rat model of collagen-induced arthritis by M40403, a superoxide dismutase mimetic. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2909-21.
 27. Banford JC, Brown DH, Hazelton RA, McNeil CJ, Sturrock RD, Smith WE. Serum copper and erythrocyte superoxide dismutase in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1982;41:458-62.
 28. Igari T, Kaneda H, Horiuchi S, Ono S. A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Clin Orthop Relat Res* 1982;(162):282-7.
 29. Cimen MY, Cimen OB, Kacmaz M, Ozturk HS, Yorgancioglu R, Durak I. Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2000;19:275-7.
 30. Mazzetti I, Grigolo B, Borzi RM, Meliconi R, Facchini A. Serum copper/zinc superoxide dismutase levels in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Clin Lab Res* 1996;26:245-9.
 31. Sumii H, Inoue H, Onoue J, Mori A, Oda T, Tsubokura T. Superoxide dismutase activity in arthropathy: its role and measurement in the joints. *Hiroshima J Med Sci* 1996;45:51-5.
 32. Hoedt-Schmidt S, Schneider B, Kalbhen DA. Histomorphological studies on the effect of recombinant human superoxide dismutase in biochemically induced osteoarthritis. *Pharmacology* 1993;47:252-60.