

Gonartrozda farklı eklem içi ilaç uygulamalarının antioksidan sistem ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi

The effect of different intraarticular drug applications to the antioxidation system and lipid peroxidation in gonarthrosis

Ahmet Aslan¹, Nevres Hürriyet Aydoğan², Mücahit İlhan³, Remzi Arif Özerdemoğlu⁴, İrfan Altuntaş⁵, Hüseyin Yorgancıgil⁶

¹Afyonkarahisar Devlet Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Afyonkarahisar

²Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Ortopedi ve Travmatoloji, Ankara

³Eğirdir Kemik Eklem Hastalıkları Tedavi ve Rehabilitasyon Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Isparta

⁴Özel Sema Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İstanbul

⁵Muğla Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Muğla

⁶Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Isparta

Özet

Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu diz osteoartrinin (gonartroz) patogenizinde rol oynayabilir. Bu çalışmada, osteoartritli dizlerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunma sisteminin hastalık mekanizmasındaki rolü ve farklı eklem içi tedavilerin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkilerini araştırdık. Amerikan Romatoloji Koleji ölçütlerine göre gonartroz tanısı alan 75 hasta rastgele eşit 5 gruba ayrıldı. Birinci gruba sadece eklem içi serum fizyolojik verilerle kontrol grubu kabul edildi. İkinci gruba yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit (HA, hylan G-F 20) eklem içi haftada bir üç kez uygulandı. Üçüncü gruba metil prednizolon asetat bir kez eklem içi verildi. Dördüncü gruba düşük molekül ağırlıklı HA, hyaluronan eklem içi haftada bir beş kez uygulandı. Beşinci gruba tenoksikam bir kez eklem içi verildi. Eklem sıvısı ve hemolizatta serbest radikallerin lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) ve antioksidan enzimler; superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri tedavi öncesi ve sonrasında ölçülerek karşılaştırıldı. Farklı eklem içi uygulamalarla tedavi sonrası her bir grupta sinovial sıvıdaki MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Hemolizat MDA, SOD, GSH-Px ve CAT seviyelerinde tedavi öncesine göre anlamlı fark gözlenmedi. Sinoviyal sıvıda CAT aktivitesine rastlanmadı. Sinoviyal sıvıdaki SOD ve GSH-Px aktivitelerinde tedavi öncesine göre artış görüldü fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gonartroz tedavisinde farklı eklem içi uygulamalar sinoviyal sıvıda lipid peroksidasyonunu azaltabilir. Gelecekte, gonartrozda tedavinin etkinliğini değerlendirmede klinik ölçütlere ek olarak MDA gibi biyokimyasal ölçümlerin de rutin olarak kullanılabilmesine yönelik daha ileri araştırmalar yapılabilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzimler; eklem içi tedavi; gonartroz; malondialdehit; sinoviyal sıvı

Abstract

Oxidative stress and lipid peroxidation may have a role in pathogenesis of knee osteoarthritis (gonarthrosis). In this study, we investigated both the role of disease mechanisms, lipid peroxidation and antioxidant defense system and the effects of different intraarticular therapies on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in gonarthrosis. A total of 75 patients with knee pain who were diagnosed as gonarthrosis according to the American College of Rheumatology (ACR) criteria were included in this study, and randomly and equally divided into 5 groups. Only intraarticular saline was applied to the control group (Group 1). Intraarticular high molecular weight hyaluronic acid (HA, hylan G-F 20) treatment was given to Group 2 for 3 weeks. Intraarticular metil prednizolon acetate were administered to Group 3. Intraarticular low molecular weight HA, hyaluronan treatment was given to Group 4 for 5 weeks. Intraarticular tenoxicam treatment was given to Group 5. Blood and synovial fluid samples were taken from all the patients for biochemical analysis, and the following parameters were measured: Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), and malondialdehyde (MDA). After the treatment synovial fluid MDA levels were significantly decreased in each group according to control group. No significant change was found in MDA, SOD, GSH-Px and catalase activities in hemolysate. CAT enzymatic activity was not present in synovial fluid. Synovial fluid SOD and GSH-Px activities were increased after the treatment but this augmentation was not significant statistically. In gonarthrosis, different intraarticular therapies may diminish lipid peroxidation in synovial fluid. In the future, to assess the effectiveness of gonarthrosis treatment in addition to clinical criteria, such as the MDA to be used as a routine biochemical measurements can be made for further research.

Keywords: Antioxidant enzymes; intraarticular treatment; gonarthrosis; malondialdehyde; synovial fluid

Giriş

Osteoartrit (OA), eklem kıkırdağında başlayan ve zaman içerisinde eklem yapısında bulunan diğer yapıları etkileyen dejeneratif bir hastalıktır. Kıkırdak matriks sentezi ile yıkımı arasındaki dengenin bozulması patogeneze sorumlu tutulur. Diz osteoartrinde (gonartroz) kıkırdak matriks yıkımında, serbest oksijen

radikalleri (SOR) ana etkenlerdendir ve hastaların sinoviyal sıvısında sağlıklı bireylere göre daha fazla miktarlarda bulunur. Proteolitik enzimlerin, reaktif oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun hasar verici potansiyelde oldukları sinoviyal sıvı analizlerinde saptanmıştır. Ayrıca sinoviyal sıvının; hyaluronik asit içeriği, molekül ağırlığı, viskoelastisitesi, şok emici ve lumbrikan özellikleri azalmıştır (1-5). Serbest radikaller başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan moleküllerdir ve en önemlileri oksijenden oluşan radikallerdir. SOR kollajen,

İletişim/Correspondence to: Ahmet Aslan, Afyonkarahisar Devlet Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Afyonkarahisar, TÜRKİYE
Tel: +90 533 394 82 52 draaslan@hotmail.com

Geliş Tarihi: 16.10.2011 **Kabul Tarihi:** 24.10.2011
Received: 16.10.2011 **Accepted:** 24.10.2011

DOI: 10.5455/GMJ-30-2011-55
www.gantep.edu.tr/~tipdergi
ISSN 1300-0888

hyaluronan ve proteoglikanın yapısında bozulmaya yol açar. Eklemdeki kondrosit ve sinoviyositlerin oksidatif stresten etkilendiği ve oluşan SOR'un kırıkta matriksin yıkımında ve sinoviyal sıvının viskozitesinde azalmaya yol açtığı düşünülmektedir (6-10).

OA tedavisinde; farmakolojik, fizik-terapi, eklem içi, cerrahi tedavi seçenekleri bulunmaktadır ve bu konuda rehberler geliştirilmiştir. Eklem içi tedavilerin ağrı ve fonksiyonel duruma olumlu klinik etkileri birçok çalışmayla belirtilmiştir (11-13).

Literatürde, gonartrozda eklem içi tedavilerin etkinliği genellikle klinik çalışmalarla araştırılmıştır. Eklem içi tedavilerin OA'li olgularda eklem sıvısı ve kanda, SOR'un lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid (MDA) ve bu radikallere karşı savunma enzimleri olan; SOD, GSH-Px ve CAT seviyelerine etkisini birlikte araştıran çalışmaya rastlayamadık. Bu çalışmada; eklem içi tedaviler öncesi ve sonrası eklem sıvısı ve kanda MDA, SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerini ölçerek OA'li dizlerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunma sisteminin hastalık mekanizmasındaki rolünü ve eklem içi tedavilerin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntemler

Polikliniğimize 40 yaşın üzerinde, diz ağrısı şikayeti ile başvuran, Amerikan Romatoloji Derneği'nin (ACR) (3) kriterlerine göre klinik olarak gonartroz konulmuş, en az üç ay konservatif tedaviye rağmen fayda görmeyen, radyolojik değerlendirme; Kellgren-Lawrence kriterlerine (14) göre II-III olan hastalar çalışmaya alındı. Sistemik sorgu ve fizik muayenede; alerji öyküsü olan, son iki ay içinde oral veya parenteral kortikosteroid kullanmış olan, herhangi bir enfeksiyöz, inflamatuvar, metabolik vb. ağır sistemik hastalığı olan, çalışılan dize son üç ay içinde eklem içi tedavi uygulanan veya son 3 yıl içinde diz artroskopisi olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışma 2005 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi (SDÜTF) Ortopedi ve Travmatoloji Polikliniği'ne başvuran hastalarda, tek kör, randomize ve kontrollü yapıldı. Biyokimyasal analizler SDÜTF Biyokimya Kliniği Laboratuvarları'nda yapıldı. SDÜTF Etik Kurul onayı ve hasta onamları alındı. Hastalara; içinde sadece tedavi grup numarasının yazılı olduğu zarflar verilerek rastgele eşit beş gruba ayrıldı:

1. grup kontrol grubu olup, diz eklemine ilaç yerine birer hafta ara ile intraartiküler 2 ml %0.9'luk serum fizyolojik (SF) uygulandı. 2. gruba birer hafta arayla 3 kez 2 ml yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit hylan G-F 20 (Synvisc®, Genzyme Biosurgery, A.B.D) eklem içi uygulandı. 3. gruba birer hafta arayla 3 kez metil prednizolon asetat (MPA, Depo-medrol®, Pfizer, Türkiye) eklem içi uygulandı. Dördüncü gruba birer hafta arayla 5 kez 2 ml düşük molekül ağırlıklı Na hyaluronat-hyaluronan (Hyalgan®, Fidia Farmaceutici S.p.A, İtalya) eklem içi uygulandı. Beşinci gruba steroid olmayan antiinflamatuvar (NSAİ), tek doz 20 mg tenoksikam içeren ilaçtan (Tilcotil®, Deva, Türkiye) 2

ml eklem içi uygulandı. Eklem içi uygulanan ilaçların dozu, sayısı, süresi ve uygulama şekli üretici/ithalatçı firma prospektüsü ve literatürdeki benzer uygulamalara göre yapıldı (13,38,41).

Laboratuvar incelemesi olarak tüm hastalara çalışmaya başlamadan önce enfektif ve/veya eşlik eden hastalıklar açısından tam kan sayımı, rutin biyokimyasal incelemeler, C-reaktif protein, romatoid faktör bakıldı. Tedavinin etkinliği: SOR'un yol açtığı lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ve bu radikallere karşı savunma sistemi enzim (SOD, GSH-Px, CAT) aktiviteleri kan ve sinoviyal sıvı analizleriyle araştırıldı. Hastalardan tedavi öncesi ve tedavinin son dozundan 1 hafta sonra eklem sıvısı ve kan alındı. Eklem sıvıları steril şartlarda supin pozisyonunda, 20 ml tek kullanımlık sarı uçlu şırınga ile suprapatellar poş'tan aspirasyonla alındı. Kanlar alındıktan hemen sonra biyokimya laboratuvarında hemolizat ve serum elde edildi. Santrifüje edilen kanlar ve eklem sıvıları çalışmanın yapılacağı zamana kadar biyokimya laboratuvarında -20°C saklandı. Daha sonra analizler yapıldı. Biyokimyasal analizlerde, potasyum dihidrojen fosfat, disodyum hidrojen fosfat dihidrat, ksantin, titripleks III, hidrojen peroksit, trikloroasetik asit ve tiyobarbitürik asit (Merck, Almanya), CAPS, iodonitrotetrazolyum violet, ksantin oksidaz, β-NADPH, redükte glutatyon, kümen hidroperoksit (Sigma, Almanya) ve glutatyon redüktaz (Fluka, İsviçre) kullanıldı.

Enzim aktivite/seviyelerinin ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivitesinin ölçümü Sun ve arkadaşlarının metoduyla (15) yapıldı. Glutatyon peroksidaz aktivitesi, Paglia ve Valentine'nin metoduyla (16) ölçüldü. Katalaz aktivitesinin ölçümü Aebi metoduna (17) dayalı olarak yapıldı. Lipid peroksidasyonu tayini, lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu (18) kullanarak ölçüldü.

Bütün hastalara analjezik olarak sadece parasetamol ve ev egzersiz programı verildi. Parasetamol dışında analjezik almamaları, önceki günlük aktiviteleri ve verilen egzersiz programı dışında aktivitede bulunmamaları belirtildi. Ayrıca, her muayenede sistemik ve lokal yan etkiler kaydedildi. Kontrol muayenelerinde hastaların değerlendirmelerini yapan hekim hangi hastanın, hangi tedaviyi aldığını bilmiyordu. Kontrolleri düzenli 75 hastanın hemolizat ve sinoviyal sıvı sonuçları istatistiksel değerlendirmeye alındı.

Sonuçlar ortalama±standart sapma (SD) olarak verildi. Veriler SPSS 11.0 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel analizde nonparametrik Wilcoxon Signed Ranks testi kullanıldı. P<0.05 farklılık anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Çalışmaya alınan hastaların 52'si (% 69.3) kadın, 23'ü (%30.6) erkekti. Hastaların yaş ortalaması 53,04 (40-73) idi.

Tüm gruplarda hemolizatta MDA ve SOD, GSH-Px, CAT düzeylerinde tedavi öncesine göre tedavi sonrası değerler arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı (Tablo 1-5). Benzer şekilde tüm gruplarda sinoviyal sıvıda SOD, GSH-Px ve MDA düzeylerinde tedavi öncesi ne göre tedavi sonrası değerler arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı. Ayrıca çalışmamızda hiçbir grupta sinoviyal sıvıda katalaz aktivitesi tespit edilemedi. Diğer yandan tüm tedavi gruplarında (Grup 2,3,4) tedavi öncesine göre tedavi sonrası MDA sinoviyal sıvı değerlerinde anlamlı azalma vardı (Tablo 2-4) ancak kontrol grubu (Grup 1) değerlerinde anlamlı istatistiksel fark yoktu (Tablo 1). Tüm gruplardaki, tedavi öncesi ve tedavi sonrası sinoviyal sıvı MDA aktivite sonuçları Şekil 1'de grafiksel olarak gösterilmiştir. Bütün gruplarda eklem içi uygulama sırasında ve takip döneminde lokal ya da sistemik herhangi bir yan etkiye rastlanmadı.

Tablo 1. 1. Grubun istatistiksel verileri.

Grup 1 (n=15)	Parametre (Birim)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
Hemolizat	MDA (umol/g)	126,29±26,94	125,08±26,95	0,180
	SOD (U/g)	1571,56±328,3	1573,54±328,3	0,257
	GSH-Px (U/g)	90,71±6,94	90,72±6,94	0,285
	CAT (U/g)	8,77±1,17	8,74±1,18	0,715
Sinoviyal sıvı	MDA (umol/g)	0,38±0,17	0,39±0,17	0,655
	SOD (U/g)	0,96±0,12	0,99±0,19	0,102
	GSH-Px (U/g)	278,96±49,49	278,93±49,47	0,345

Tablo 2. 2. Grubun istatistiksel verileri.

Grup 2 (n=15)	Parametre (Birim)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
Hemolizat	MDA (umol/g)	111,83±38,81	110,77±38,76	0,144
	SOD (U/g)	1261,32±67,64	1262,33±67,64	0,257
	GSH-Px (U/g)	86,63±5,73	87,63±6,74	0,891
	CAT (U/g)	3,10±1,61	3,12±1,64	0,285
Sinoviyal sıvı	MDA (umol/g)	0,45±0,22	0,18±0,05	0,003*
	SOD (U/g)	1,08±0,11	1,21±0,18	0,059
	GSH-Px (U/g)	256,38±18,19	259,34±17,19	0,109

Tablo 3. 3. Grubun istatistiksel verileri.

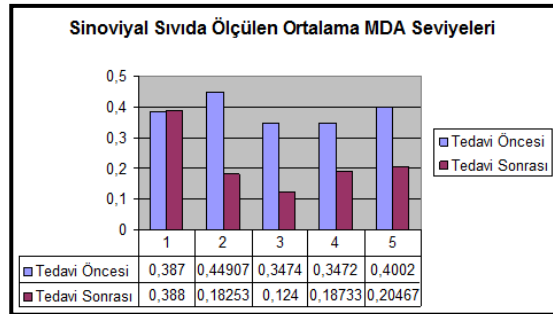
Grup 3 (n=15)	Parametre (Birim)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
Hemolizat	MDA (umol/g)	97,36±25,74	97,09±23,74	0,686
	SOD (U/g)	1345,26±124,56	1341,35±126,57	0,068
	GSH-Px (U/g)	87,46±12,36	85,49±11,29	0,465
	CAT (U/g)	12,49±4,44	12,50±4,43	0,345
Sinoviyal sıvı	MDA (umol/g)	0,35±0,20	0,12±0,07	0,016*
	SOD (U/g)	1,04±0,16	1,40±0,28	0,138
	GSH-Px (U/g)	259,56±12,21	262,73±11,34	0,225

Tablo 4. 4. Grubun istatistiksel verileri.

Grup-4 (n=15)	Parametre (Birim)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
Hemolizat	MDA (umol/g)	92,76±14,08	93,74±15,12	0,715
	SOD (U/g)	1353,70±94,42	1358,67±95,42	0,068
	GSH-Px (U/g)	82,39±10,77	84,45±11,78	0,176
	CAT (U/g)	8,82±4,23	8,84±4,31	0,684
Sinoviyal sıvı	MDA (umol/g)	0,35±0,23	0,19±0,19	0,041*
	SOD (U/g)	1,03±0,26	1,04±0,25	0,593
	GSH-Px (U/g)	239,51±21,91	241,38±23,95	0,269

Tablo 5. 5. Grubun istatistiksel verileri.

Grup-5 (n=15)	Parametre (Birim)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
Hemolizat	MDA (umol/g)	97,70±39,73	95,70±41,71	0,157
	SOD (U/g)	907,16±99,87	910,14±96,24	0,345
	GSH-Px (U/g)	83,49±14,16	86,56±13,51	0,144
	CAT (U/g)	4,03±2,03	5,03±2,03	0,655
Sinoviyal sıvı	MDA (umol/g)	0,40±0,29	0,20±0,17	0,028*
	SOD (U/g)	0,83±0,05	0,93±0,06	0,593
	GSH-Px (U/g)	230,24±35,47	241,24±33,30	0,102



Şekil 1. Gruplara göre MDA seviyeleri.

Tartışma

OA etyopatogenezi ve tedavisiyle ilgili literatürde OA patogenezinde SOR'un rolüyle ilgili çalışmalarda, Loeser ve ark. (19) hem yaşlanma hem de OA'te NO ve diğer SOR'un aşırı üretimine bağlı oksidatif hasarın varlığını ve bu hasarın kondrositlerde IGF-1 stimülasyonuna karşı direnç oluşumuyla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Martin ve ark. (20,21) OA'te travmanın kondrosit yaşlanmasını hızlandırarak OA gelişimini tetiklediğini ve eklem kıkırdağındaki kondrositlerin yaşlanmalarının IL-1'in etkilerinden bağımsız olarak SOR ile de tetiklendiğini rapor etmişlerdir. Dijkgraaf ve ark. (22) OA'lı eklemlerde kısıtlılığa yol açan adezyon oluşumunun, SOR'un proteinleri okside ederek çapraz bağ oluşumunda artış neticesinde oluştuğunu göstermişlerdir. Tiku ve ark. (23) ise SOR'un membran lipidlerinin peroksidasyonuna yol açtığını, kondrositlerdeki bu olayın geri dönüşümsüz olduğunu dolayısıyla SOR'un kıkırdak hasarında ve OA patogenezinde majör rol oynadığını belirtmişlerdir. OA patogenezinin yönelik bir çalışmada ise kondrositlerde glukokortikoid reseptörlerinin eksik olduğunun gösterildiği belirtilmektedir (24).

Serbest radikallerin membran lipidlerine etkisi ile oluşan lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için MDA düzeylerine bakılmaktadır. Sinoviyal sıvıda MDA düzeylerindeki yükseklik, eklemdeki reaktif oksijen radikallerinin varlığını açıkça ortaya koymaktadır. Erdem ve ark. (25) deneysel çalışmalarında, sinoviyal sıvı ve kanda SOD, CAT, GSH-Px antioksidan enzimlerin aktivitesi ve oksidatif stres parametrelerinden NO ve MDA düzeylerini ölçmüşler; sinoviyal sıvıda SOR artışının kırıkta yıkımı oluşturabileceğini ve OA etyopatogenezinde potansiyel faktörlerden biri olabileceğini belirtmişlerdir. Chaturvedi ve ark. (26) RA'li, OA'lu ve sağlıklı bireylerin bulunduğu üç grupta serum ve sinoviyal sıvıda MDA seviyelerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, OA ve RA'li her iki grupta sinoviyal sıvıdaki MDA seviyeleri artmış olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda hemolizat MDA değerlerinde, tedavi sonrası anlamlı değişiklik gözlenmedi ($P>0.05$). Çalışmamızda sağlıklı bireylerin olduğu kontrol grubumuz yoktu ancak tedavi öncesine göre daha yüksek seviyede olan sinoviyal sıvı MDA seviyelerinin tedavi gruplarında anlamlı düzeyde azalması (Tablo 2-4) hem uygulanan tedavilerin diz OA'de etkili olduğunu bildiren (11-13) çalışmalarla hem de OA'li dizlerde sinoviyal sıvı MDA düzeylerinin yüksek bulunduğunu belirten literatürle uyumlu olduğu söylenebilir.

Süperoksit dismutaz (SOD); hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı koruyan ve lipid peroksidasyonunu inhibe eden enzimdir. Katalaz (CAT) ise hücreleri direkt H_2O_2 'ye karşı korur. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına neden olur. Sinoviyal sıvıda bu enzimlerin hepsi bulunmaktadır (27-30).

Vücutta dokuları serbest oksijen radikallerinden koruyacak birçok antioksidan savunma mekanizması vardır. Bunlardan endojen antioksidan enzimlerden başlıcaları SOD, CAT ve GSH-Px'tir. Normal şartlarda serbest oksijen radikalleri bu antioksidan enzimlerle ortamdan uzaklaştırılır. Diğer yandan eklem kırıktağı üzerine süperoksit radikallerinin yaptığı zararlı etkilerin rekombinant SOD, GSH-Px ve CAT tarafından önlenemediği gösterilmiştir (31). OA'li eklem sıvısında serbest oksijen radikalleri arttığı için antioksidan düzeylerinin normale göre azalmış olması beklenir. Bazen antioksidan enzimin aktivitesini ölçülemeyecek kadar az veya hiç yoktur. Bu durum şaşırtıcı değildir çünkü zaten ekstraselüler sıvılarda CAT aktivitesi çok az veya hiç yokken, SOD ve GSH-Px aktivitesi oldukça azdır. Ivanova ve ark. (32) OA'li eklemlerden alınan sıvılarda SOD aktivitesinin çok az olduğunu ve CAT aktivitesine rastlamadıklarını belirtmişlerdir. Kalacı ve ark. (33) yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre OA grubunda, NO düzeylerini yüksek, SOD düzeylerini düşük bulmuşlar ve NO'nun oksidatif kırıktağı yıkım mediatörü SOD'un ise antioksidan mediyatör olduğunu bildirmişlerdir. Ostalowska ve ark. (34) yayınladıkları bir çalışmada primer ve sekonder OA'li hastaların bulunduğu iki grupta sinoviyal sıvıda lipid

peroksidasyon ürünü MDA ve antioksidan enzim aktiviteyi araştırılmıştır. Her iki grupta da sinoviyal sıvıda CAT aktivitesine rastlanmamıştır. Her iki grupta da sinoviyal sıvı viskozitesinde azalma görülmüştür. Çalışmamızda da sinoviyal sıvıda CAT aktivitesi tespit edilemezken, SOD ve GSH-Px aktiviteyi oldukça azalmış olarak bulunmuştur. Bu durum literatürle uyumludur.

OA'de NSAİ tedavisinin oksidatif stres üzerine etkileriyle ilgili az sayıdaki çalışmada, Özgöçmen ve ark. (35) günlük oral 200 mg selekoksib ya da 20 mg günlük oral tenoksikam ile tedavi ettikleri 23 diz OA'li hastada 4 haftalık tedavi sonunda diz OA'inde selekoksib ve tenoksikam tedavilerinin kan eritrosit SOD, GSH-Px ve MDA seviyelerini tedavi sonrasında öncesine göre anlamlı seviyede değiştirmediklerini gözlemlemişlerdir. Biemond ve ark. (36) ise oral 40 mg başlangıç ve 24 saat sonra oral 20 mg idame dozu verdikleri hem romatoid artritli hem de OA'li bireylerde piroksikamın NADPH-oksidaz sisteminin aktivasyonunu bloke ederek granülositlerde oksijen üretimini ve serbest oksijen hasarını önlediğini göstermiştir. Burak ve ark. (37) OA'li 33 hastalı serilerinde farklı NSAİ (selekoksib: 200 mg/gün, meloksikam: 15 mg/gün ve ibuprofen: 1200 mg/gün) ile 21 günlük oral tedavi sonrasında hemolizatta SOD, CAT, GSH-Px aktiviteyi, MDA ve AOP (antioksidan potansiyel) düzeylerini araştırmışlar, tedavi öncesine SOD aktivitesi ve AOP seviyelerinin önemli ölçüde azalmış olduğunu, ancak CAT, GSH-Px aktivitesi ve MDA düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, azalmış SOD aktiviteyi artmış süperoksit anyon ile ilişkili olabileceğini, azalmış AOP düzeylerinin ise OA'de antioksidan savunma sistemi bozukluğu gösterebileceğini belirtmişlerdir. Kırdemir ve ark. (38) artroskopisi sonrası hastalara eklem içi neostigmin, tramadol ve tenoksikam verilen tedavi gruplarını sadece SF verilen kontrol grubuyla karşılaştırmışlar ve bütün tedavi gruplarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu ancak en iyi klinik sonucun tenoksikam grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda NSAİ (tenoksikam) grubunda hemolizat SOD, GSH-Px ve MDA seviyelerinde anlamlı değişiklik gözlenmezken sinoviyal sıvıda MDA düzeyleri, sadece SF yapılan gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Yukarıda belirtilen çalışmalarda (2,35-37) oral yolla sistemik NSAİ tedavisi uygulanmış ve sadece hemolizatta araştırma yapılmıştır. Ayrıca eklem içi tenoksikam uygulamasının yapıldığı çalışmada ise (38) sadece klinik sonuçlar araştırılmıştır. Diğer yandan bizim çalışmamızda eklem içine lokal NSAİ (tenoksikam) tedavisi uygulandı ve hem hemolizatta hem de sinoviyal sıvıda çalışma yapıldı ancak klinik sonuçlar araştırılmadı. Dolayısıyla bahsettiğimiz nedenlerle bazı sonuçlarımızın belirtilen literatürle uyumlu olmaması anlaşılır olabilir.

OA'de eklem içi HA tedavisinin oksidatif stres üzerine etkileriyle ilgili çalışmalarda, Karatay ve ark. (39) yaptıkları bir çalışmada OA'li hastalarda farklı hyaluronik asit moleküllerinin NO ve GSH-Px üzerine etkiler araştırılmıştır. Bir gruba native sodyum

hyaluronat diğer gruba hylan G-F 20 verilmiş, sonuç olarak farklı molekül ağırlığa sahip HA'nın etkilerinin aynı olduğu, NO düzeylerini anlamlı derecede azalttıkları ve antioksidan enzim seviyelerine etkileri olmadığı görülmüştür. Karakurum ve ark. (40) tavşanlarda yaptıkları deneysel çalışmada; bir gruba hyaluronan, bir gruba kortizon ve bir gruba da hyaluronanla birlikte kortizon uygulamıştır. Sonrasında serum MDA seviyeleri ölçülmüş, sadece hyaluronan ve sadece kortizon verilen grupta anlamlı değişiklik görülmezken hyaluronan ve kortizonun beraber verildiği grupta MDA düzeylerinde anlamlı azalma görülmüştür. Eklem içi HA ve kortizon tedavilerinin klinik etkileriyle ilgili çalışmalarda ise, hyaluronan enjeksiyonlarıyla ağrıda sağlanan rahatlama, intraartiküler glukokortikoid enjeksiyonlarıyla sağlanandan daha yavaş gerçekleşmesine karşın, hyaluronan enjeksiyonlarının etkisi önemli ölçüde daha uzun sürebilmektedir (6). Yapılan meta analizlerde eklem içi HA tedavisinin ağrı ve fonksiyonel durum üzerine plaseboya göre etkili olduğu, etkinin eklem içi steroid uygulamasına göre daha geç başladığı ancak daha uzun ve oral NSAİİ'lerle gözlenen rahatlamayla karşılaştırılabilir düzeyde olduğu diğer yandan düşük molekül ağırlıklı ve yüksek molekül ağırlıklı preparatlar arasında molekül ağırlığının bir fonksiyonu olarak biri birine üstünlükleri olmadığı bildirilmektedir (6-8). Uğur ve ark. (41) gonartrozlu hastalarda eklem içi HA ile metil prednizolon asetatinin tedavisi iyi tolere edildiğini ve ağrı, tutukluk ve fiziksel fonksiyon üzerinde anlamlı iyileşmeler olduğunu, kısa dönemde metil prednizolon asetat enjeksiyon tedavisi, HA enjeksiyonlarına göre daha üstün olduğunu ancak uzun süreli etkinlik açısından uzun takipli çalışmalara vurgu yapmışlardır. Diğer yandan eklem içi steroid enjeksiyonlarının eklem kıkırdağı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu ve kullanımlarının kısıtlı olması gerektiği yönünde raporlar olsa da gonartrozda eklem içi steroid kullanımının uzun vadede güvenli ve semptomların giderilmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (24).

Çalışmamızda da intraartiküler tedavilerin (düşük ve yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit, steroid, tenoksikam) kan SOD, GSH-Px ve MDA seviyelerini etkilemediği görülmüştür. Ancak sinoviyal sıvıda MDA aktiviteleri tüm tedavi gruplarında, sadece SF yapılan gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu sonuç OA'de eklem içi tedavilerin lipid peroksidasyonunu azaltabileceğini ve bunun ağrı ve fonksiyonel duruma olumlu klinik yansımaları olabileceğini düşündürür.

Belirtmek gerekir ki, bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları vardır. Olguların klinik sonuçları araştırılmamıştır. Diğer yandan OA'de eklem içi tedavilerin antioksidan sistem ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisini araştıran geniş çaplı çalışmaya rastlayamadık. Bu durum sonuçlarımızın literatürle tartışmasını güçleştirmiştir. Ek olarak bazı literatürde MDA gibi oksidatif stres parametrelerinden olduğu bildirilen oksidatif kıkırdak yıkım mediatörü olan nitrik oksit (NO) düzeyleri bu çalışmada araştırılmamıştır. Diğer kısıtlılıklar ise sinoviyal sıvının viskozitesini araştırmamız ve

sağlıklı kontrol grubumuzun olmaması sayılabilir. Ayrıca çalışmamızda hiçbir lokal ve sistemik yan etkiye rastlamadığımızdan yan etkilerle ilgili raporlardan bahsedilmemiştir.

Sonuç olarak gonartrozda eklem içi tedavinin sinoviyal sıvıda lipid peroksidasyonuna anlamlı etkileri olduğu ancak, antioksidan sistemin aktivitesinin tedaviden etkilenmediği görülmüştür. Gonartrozda farklı eklem içi tedavilerin sinoviyal sıvıda antioksidan sistem aktivitesi ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi yanında gelecekte, gonartrozda tedavinin etkinliğini değerlendirmede klinik ölçütlere ek olarak MDA gibi biyokimyasal ölçümlerin de rutin olarak kullanılabilmesine yönelik daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği, klinik sonuçların da birlikte araştırıldığı prospektif, plasebo kontrollü, çift kör, randomize daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar çatışması ve finansman beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanmasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını ve bu makalenin araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan ederler.

Teşekkür

Yazarlar Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji, Biyokimya ve Halk Sağlığı (Tıbbi İstatistik) Anabilim Dalları'na katkılarından dolayı teşekkür ederler.

Kaynaklar

1. Greenwald RA. Oxygen radicals, inflammation, and arthritis: pathophysiological considerations and implications for treatment. *Semin Arthritis Rheum* 1991;20(4):219-40.
2. Sutipompalangkul W, Morales NP, Charoencholvanich K, Harnroongroj T. Lipid peroxidation, glutathione, vitamin E, and antioxidant enzymes in synovial fluid from patients with osteoarthritis. *Int J Rheum Dis* 2009;12(4):324-8.
3. Uysal G.F, Başaran S. Diz osteoartriti. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg* 2009;55(Supl.1):1-7.
4. Aydoğan NH, Baydar ML, Atay T, Perktas I, Baykal BY, Özmeriç A. The effect of arthroscopic surgery and intraarticular drug injection to the antioxidation system and lipid peroxidation at osteoarthritis of knee. *Saudi Med J* 2008;29(3):397-402.
5. Regan EA, Bowler RP, Crapo JD. Joint fluid antioxidants are decreased in osteoarthritic joints compared to joints with macroscopically intact cartilage and subacute injury. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16(4):515-21.
6. Barbor DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: A review. *Am Pharm* 1994;34(9):26-35.
7. Kurz B, Steinhagen J, Schunke M. Articular chondrocytes and synoviocytes in a co-culture system: Influence on reactive oxygen species-induced cytotoxicity and lipid peroxidation. *Cell Tissue Res* 1999;296(3):555-63.
8. Schneider N, Mouthys-Mickalad AL, Lejeune JP, Deby-Dupont GP, Hoebcke M, Serteyn DA. Synoviocytes, not chondrocytes, release free radicals after cycles of anoxia/re-oxygenation. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334(2):669-73.
9. Tiku ML, Yan YP, Chen KY. Hydroxyl radical formation in chondrocytes and cartilage as detected by electron paramagnetic resonance spectroscopy using spin trapping reagents. *Free Radic Res* 1998;29(3):177-87.
10. Bates EJ, Johnson CC, Lowther DA. Hyaluronic acid synthesis in articular cartilage. An inhibition by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;132(2):714-20.
11. Dıraçoğlu D. Osteoartrite intraartiküler hyaluronik asit tedavisi. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg* 2007;53(4):154-9.

12. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P. et al. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2003;62(12):1145-55.
13. Atay T, Aslan A, Baydar M.L, Ceylan B, Baykal B, Kırdemir V. Gonartrozlu hastalarda artroskopik debridman sonrası viskosuplementasyon uygulamalarının karşılaştırılması. *Acta Orthop et Traumatol Turc* 2008;42(4):228-33.
14. Petersson IF, Boegard T, Saxne T, Silman AJ, Svensson B. Radiographic osteoarthritis of the knee classified by the Ahlback and Kellgren & Lawrence systems for the tibiofemoral joint in people aged 35-54 years with chronic knee pain. *Ann Rheum Dis* 1997;56(8):493-6.
15. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34(3):497-500.
16. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
17. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-6.
18. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-31.
19. Loeser RF, Carlson CS, Del Carlo M, Cole A. Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage: Correlation of oxidative damage with the presence of interleukin-1beta and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor 1. *Arthritis Rheum* 2002;46(9):2349-57.
20. Martin JA, Brown T, Heiner A, Buckwalter JA. Post-traumatic osteoarthritis: the role of accelerated chondrocyte senescence. *Biorheology* 2004;41(3-4):479-91.
21. Martin JA, Klingelutz AJ, Moussavi-Harami F, Buckwalter JA. Effects of oxidative damage and telomerase activity on human articular cartilage chondrocyte senescence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59(4):324-37.
22. Dijkgraaf LC, Zardeneta G, Cordewener FW, Liem RS, Schmitz JP, de Bont LG, et al. Crosslinking of fibrinogen and fibronectin by free radicals: a possible initial step in adhesion formation in osteoarthritis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(1):101-11.
23. Tiku ML, Shah R, Allison GT. Evidence linking chondrocyte lipid peroxidation to cartilage matrix protein degradation. Possible role in cartilage aging and the pathogenesis of osteoarthritis. *J Biol Chem* 2000;275(26):20069-76.
24. Raynould JP, Buckland-Wright C, Ward R, Choquette D, Haraoui B, Martel-Pelletier J. et al. Safety and efficacy of long term intraarticular steroid injections in osteoarthritis of the knee: randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2003;48(2):370-7.
25. Erdem M, Güneş T, Şen C, Bostan B, Aslan H, Özyurt H, Köseoğlu RD. Eklem immobilizasyonu reaktif oksijen ürünlerini artırmaktadır: Deneysel çalışma. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2009;43(5):436-43.
26. Chaturvedi V, Handa R, Rao DN, Wali JP. Estimation & significance of serum & synovial fluid malondialdehyde levels in rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res* 1999;109:170-4.
27. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview. *Methods Enzymol* 1990;186:1-85.
28. Grigolo B, Roseti L, Fiorini M, Facchini A. Enhanced lipid peroxidation in synoviocytes from patients with osteoarthritis. *J Rheumatol* 2003;30(2):345-7.
29. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause, consequence? *Lancet* 1994;344(8924):721-4.
30. Alpaslan C, Bilgihan A, Alpaslan GH, Guner B, Ozgur Yis M, Erbas D. Effect of arthrocentesis and sodium hyaluronate injection on nitrite, nitrate, and thiobarbituric acid-reactive substance levels in the synovial fluid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;89(6):686-90.
31. McIlwain H, Silverfield JC, Cheatum DE, Pooley J, Taborn J, Ignaczak T. et al. Intraarticular Orgotein in osteoarthritis of knee: a placebo controlled efficacy, safety, and dosage comparison. *Am J Med* 1989;87(3):295-300.
32. Ivanova E, Ivanova B. Mechanism of the extracellular antioxidant defend. *Exp Pathol Parasitol* 2000;4:49-59.
33. Kalacı A, Uz E, Aslan B, Söğüt S, Özkan C, Yanat AN. Diz osteoartritli hastalarda eklem sıvısında nitrik oksit değerleri ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri. *Eklem Hastalıkları ve Cerrahisi* 2007;18(1):13-17.
34. Ostalowska A, Birkner E, Wiecha M, Kasperczyk S, Kasperczyk A, Kapolka D, et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in synovial fluid of patients with primary and secondary osteoarthritis of the knee joint. *Osteoarthritis Cartilage* 2006;14(2):139-45.
35. Ozgocmen S, Ardicoglu O, Erdogan H, Fadillioglu E, Gudul H. In vivo effect of celecoxib and tenoxicam on oxidant/antioxidant status of patients with knee osteoarthritis. *Ann Clin Lab Sci* 2005;35(2):137-43.
36. Biemond P, Swaak AJ, Penders JM, Beindorff CM, Koster JF. Superoxide production by polymorphonuclear leucocytes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: In vivo inhibition by the antirheumatic drug piroxicam due to interference with the activation of the NADPH-oxidase. *Ann Rheum Dis* 1986;45(3):249-55.
37. Burak Cimen MY, Cimen OB, Eskandari G, Sahin G, Erdoğan C, Atik U. In vivo effects of meloxicam, celecoxib, and ibuprofen on free radical metabolism in human erythrocytes. *Drug Chem Toxicol* 2003;26(3):169-76.
38. Kırdemir P, Marsan A, Gogus N, Tabak Y, Tekin M. İntraartiküler neostigmin, tramadol ve tenoksikamin analjezik etkilerinin karşılaştırılması. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2001;35(4):358-62.
39. Karatay S, Kızıltunç A, Yıldırım K, Karanfil RC, Senel K. Effects of different hyaluronic acid products on synovial fluid NO levels in knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 2005;24(5):497-501.
40. Karakurum G, Karakok M, Tarakçıoğlu M, Koçer NE, Kocabaş R, Bağcı C. Comparative effect of intra-articular administration of hyaluronan and/or cortisone with evaluation of malondialdehyde on degenerative osteoarthritis of the rabbit's knee. *Tohoku J Exp Med* 2003;199(3):127-34.
41. Uğur M, Tuğuş A, Melikoğlu MA, Yıldırım K, Şenel K. Diz dejeneratif osteoartritli hastalarda intraartiküler hyaluronik asit ile intraartiküler metil prednizolon asetatin etkinliklerinin karşılaştırılması. *Eurasian Journal of Medicine* 2007;39(3):185-8.