

## Osteoartritin Patogenezinde Rolü Olan Oksidatif Stres ve İnflamasyon Üzerine Hyalüronik Asidin Etkisi\*

### Effect Of Hyaluronic Acide On Oxidative Stress And Inflammation Which Have Role In Pathogenesis Of Osteoarthritis

Sibel KOÇAR ÇELİK<sup>1</sup>, Ahmet KAHRAMAN<sup>1</sup>, Gökhan MARALCAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya AD Afyonkarahisar  
<sup>2</sup> Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji A.D Afyonkarahisar

**ÖZET: Amaç:** Osteoartrit (OA), deformite ve sakatlığa kadar giden bulgu ve semptomlara neden olarak hayatın yaşam kalitesini düşürmektedir. Hastanın yaşam kalitesini artırmak amacıyla uygulanan birçok tedavi semptomlara yöneliktir ve semptomatik iyileşme sağlarlar. Asıl kıkırdak yapımını azaltan ve yapımını artıran kıkırdak koruyucu tedaviye ihtiyaç vardır. Konroprotektif ilaçlar, hastalığı gerilemesini ve progresyonunun yavaşlamasını sağlarlar. Bu amaçla hyalüronik asit (HA ) preparatları kullanılmaktadır. Bu çalışmada osteoartritli (OA) hastalara hyalüronik asit (HA) uygulamasının OA'in patogenezinde rolü olan inflamasyon ve oksidatif stres üzerine etkilerini belirlemeyi amaçladık.

**Gereç ve yöntemler:** Diz OA'li hastalara (n=8) intraartiküler olarak 3 doz HA uygulandı. HA uygulanmadan önce (kontrol grubu) ve 3. dozunun uygulanmasından sonra (tedavi grubu) enjektör ile eklem sıvısı elde edildi. Kontrol grubu ve tedavi grubu eklem sıvılarında lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit düzeyi (MDA) , anti oksidan kapasiteyi gösteren redükte glutatyon (GSH) ve protein sülfidril (SH) grupları ile inflamatuvar procesin göstergesi olarak tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) düzeyleri ve protein karbonil içeriği çalışıldı.

**Bulgular:** Tedavi grubunda MDA ( $p<0.05$ ), karbonil ( $p<0.01$ ) ve TNF- $\alpha$  ( $p<0.01$ ) düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı, GSH ( $p<0.05$ ) düzeylerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. Protein SH gruplarının düzeylerinde de hafif artma saptandı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Biz HA tedavisinin, eklem sıvısında azalmış MDA, karbonil ve TNF- $\alpha$  düzeyleri, artmış SH ve GSH düzeyleri ile ilişkili olarak OA'in patogenezinde pozitif etkileri olduğu düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Osteoartrit, hyalüronik asit, inflamasyon, oksidatif stres.

**ABSTRACT: The aim:** Owing to the finding and symptoms which lead to deformation and physical disability, osteoarthritis (OA) reduces the patient's life quality. Much treatment that is used to increase the life quality of the patients is directed towards to symptoms. They provide symptomatic recovery. There is a need for protective treatment that reduces the ruin of the main cartilage and increases the anabolism of cartilage. Condroprotective medicines provide the regression of the disease and slow the progression down. Hyluronic acid (HA) has been used for this aim. In this study, we have aimed to determine effects of HA application to patients with osteoarthritis (OA) on inflammation and oxidative stress that has role in pathogenesis of OA.

**Materials and methods:** It was applied intraarticularly three doses of HA to patients with OA (n=8) Joint fluid has been obtained with injector before application of HA (control group) and after application of third doses (treatment group). The levels of malondialdehyde (MDA) which is a product of lipid peroxidation, reduced glutathione (GSH) and protein sulphhydryl groups (SH groups) which indicate antioxidant capacity, tumor necrosis factor-  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) as an indicator of inflammatory process and the content of protein carbonyl in the joint fluid of control group and treatment group have been estimated.

**Results:** It was observed that decreased MDA ( $p<0.05$ ), carbonyl ( $p<0.01$ ) and TNF- $\alpha$  ( $p<0.01$ ) levels and increased GSH ( $p<0.05$ ) levels in treatment group significantly. It was determined the mild increase in protein SH groups. But it was not a significant increase, statistically ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** We consider that HA therapy have positive effects associated with a decrease MDA, carbonyl and TNF- $\alpha$  levels, a rises on SH and GSH levels in the joint fluid on pathogenesis of OA.

**Key Words:** Osteoarthritis, hyaluronic asid, inflammation, oxidative stress.

## GİRİŞ

Osteoartrit (OA), dünyada en yaygın görülen eklem hastalığıdır. Ayrıca fiziksel özürüllüğün de en önemli nedenlerindedir (1). 65 yaş üzerindeki kişilerin çoğunda ve 75 yaş üzerindeki %80'inde radyolojik olarak OA saptanmaktadır (2). OA insidansı yılda %4'tür. İleri yaş gruplarında ise bu oran %10'a çıkmaktadır (3).

Yaş ile OA'in prevalans ve insidansı arasında güçlü bir ilişki olduğu bilinmektedir. Yaşlanma sırasında, kıkırdak morfolojisi ve mekanik özelliklerinin değişikliği, eklem yüzey dejenerasyon riskinin artmasına neden olmaktadır. Yaşlanma sürecinde sıklıkla karşılaşılan olaylar, proteoglikanların büyüklük ve agregasyonunda azalma, kollajen çapraz bağında artma ve gerilme kuvvetinin kaybıdır (4).

OA, American College of Rheumatology (ACR) tarafından eklem kıkırdağının bozulmuş yapılıması nedeniyle eklem semptomlarına yol açan, eklem kenarlarındaki kemiklerde değişiklikler yaratan durumların heterojen bir grubu olarak tanımlanmaktadır (5). Kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir. OA, kıkırdak dejenerasyonuna bağlı eklem fonksiyonunun kaybı ve eklem ağrısı ile karakterize bir hastalıktır (6).

OA'in yavaş ilerleyen kronik bir hastalık olduğu bilinmektedir. Genellikle OA'in el eklemlerinde en hızlı, diz eklemlerinde en yavaş, kalça eklemlerinde ise orta hızda ilerlediği bildirilmektedir (7).

OA'li hastalarda kıkırdak hasarı daha erken oluşmakta, sinoviyal inflamasyon ise, romatoid artritli (RA) hastalardan daha geç ortaya çıkmaktadır (8).

Aşırı mekanik yük ve stres, sitokinlerden interlökin(IL)-1, Tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve matriks metalloproteaz (MMP)'lerden MMP 1,2,3,9'un ekspresyonunu indüklemektedir (9,10). IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  başta olmak üzere sitokin salınımını artırmaktadır. Ayrıca nitrik oksit (NO) ile süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) salınımını da stimüle etmektedir (11,12). Bu moleküller, inflamasyonun başlamasına ve eklem yüzeyinin değişimine katkıda bulunurlar. İskemik kondrositlerin, mediatör üretiminde primer rol oynadığı gösterilmiştir (13).

OA'te gelişen biyokimyasal değişiklikler, kollajen ağının kaybı, proteoglikan içeriğinin ve organizasyonunun azalmasıyla oluşan doku hidrasyonunun artışı içerilmektedir (14). MMP düzeyinin artmasına bağlı olarak proteoglikanların parçalandığı, bunun sonucunda proteoglikan konsantrasyonu ve agregasyonu ile glikozaminoglikan (GAG) zincir uzunluğu azalarak matriks su içeriği-

nin arttığı bildirilmektedir. Kondrositler, spesifik proteazların aktivasyonuna bağlı kıkırdak matriksin kaybını dengelemekte yetersiz kalırlar (15). Bu değişiklikler, kıkırdağın bütün bölümlerine yayılarak büyük dejeneratif değişiklikler ortaya çıkarmaktadır (16).

Kıkırdaktaki parçalanmanın kondrositler tarafından katabolik faktörlerin sentez ve salınımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (17). Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri, bu katabolik faktörler arasında bulunmaktadır. Bunlar, hücrel ve doku hasarının mediatörleridir (14).

Kondrositlerin IL-1 ile uyarıldığında, reaktif oksijen ürünleri (ROS) ürettiği bildirilmektedir. ROS protein, lipid ve karbohidrat gibi makromoleküllere saldırarak bu moleküllerde modifikasyonlara neden olmaktadır. Örneğin, kondrositler tarafından üretilen hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ), membran lipidlerinin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek zincir reaksiyonunu başlatmaktadır. Bunun sonucunda daha uzun ömürlü lipid radikalleri oluşturduğu gösterilmiştir (18). ROS proteinlere saldırarak spesifik aminoasitlerin oksidasyonu ile proteinleri modifiye etmektedir. Protein yapısında değişikliğe ve biyolojik aktivitesinde bozulmaya yol açtığı bildirilmektedir (19).

Kondrositler IL-1 ile uyarıldığında NO salgılamaktadır. NO'in, pürin ve pirimidin bazlarını deamine ederek DNA zincir kırıkları oluşturduğu (20), hücre proliferasyonunu inhibe ederek apoptozise neden olduğu (20,21,22,23), kondrosit proliferasyonunu (24) ve NADPH oksidaz enzimini inhibe ettiğine dair literatürde bilgiler mevcuttur (25,19). NO'in ayrıca TNF- $\alpha$  gibi kıkırdak parçalayıcı moleküllerin salınımına yol açtığı (20), Tip 2 kollajen ve proteoglikan sentezini inhibe ettiği (26), IL-1 $\beta$ 'nin matriks sentezindeki inhibitör etkisini artırdığı bildirilmektedir. Bunların yanı sıra insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)'e kondrosit yanıtını azalttığı, kondrosit migrasyonunu ve fibronektine bağlanmasını inhibe ettiği (19) ve MMP'leri aktive ettiği gösterilmiştir (27).

OA tedavisinde uygulanan kıkırdak koruyucu (kondroprotektif) ilaçların kıkırdak yapımını artırdığı ve kıkırdak yıkımını azalttığı gösterilmiştir (1). Diğer ilaç tedavilerinin semptomatik iyileşme sağladığı bildirilmektedir (28).

Hyalüronik asit (HA) tedavisi, hastalığın eroziv etkisini sınırlandırmaktadır (28,29). Yapılan çalışmalarda lipid peroksidasyonunu azaltarak malondialdehid (MDA) düzeyini düşürdüğü ve redukte glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyini artırdığı saptanmıştır. Sitokin gen

ekspresyonunu azaltıp, sinoviyal nötrofil infiltrasyonunu sınırladığı ve TNF- $\alpha$  düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca lenfositlerin hedef hücre yüzeyiyle etkileşimini inhibe ettiği de bildirilmektedir (29).

Bu çalışma, diz OA'li hastalara intraartiküler HA uygulamasının OA'in patogenezinde yer alan inflamasyon ve oksidatif stres üzerine etkilerini araştırmak üzere planlandı.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ahmet Necdet Sezer Uygulama ve Araştırma Hastanesinde OA tanısı konan 8 hasta (4 erkek+4 kadın) alındı. Çalışma Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygunluk ilkesini kabul eder. Hastalar çalışma konusunda bilgilendirilerek onayları alındı. Hastalara her dozu 2 ml olacak şekilde 3 doz Hylan GF-20 (Firma adı ve üretildiği yer) intraartiküler olarak birer hafta arayla uygulandı. İlaç uygulanmadan önce (kontrol grubu) ve ilacın 3. dozunun uygulanmasından sonra (tedavi grubu) enjektörle eklem sıvısı alındı. Numuneler 4000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar, inflamatuvar ve oksidatif stres markörlerini çalışacağımız güne kadar -70 °C'de muhafaza edildi.

Makroskobik olarak hemolize olmuş örnekler çalışmaya dahil edilmedi. Oksidan düzeylerini artırmaya çalışarak düşünülmesiyle romatoid artrit veya diğer sistemik hastalığı bulunan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

Protein karbonil grupları, Levine ve arkadaşlarının spektrofotometrik metoduna göre<sup>30</sup>, MDA düzeyleri, Ohkawa ve arkadaşlarının tiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonuna dayanan spektrofotometrik metoduna göre (31), GSH düzeyleri, Beutler ve arkadaşlarının spektrofotometrik metoduna göre (32), SH grupları, Koster ve arkadaşlarının modifiye spektrofotometrik metoduna göre (33) belirlendi. TNF- $\alpha$  düzeyleri, Biosource marka ELİSA kitleri ile çalışıldı.

2,4 dinitrofenilhidrazin (DNP), hidroklorik asit (HCl), triklorasetik asit (TCA), sodyum hidroksit, Na dodesil sülfat, asetik asit, n-butanol, TBA, potasyum klorür, sodyum klorür, metafosforik asit, EDTA, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, sodyum sitrat, 5-5' dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), GSH, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)'dan temin edildi. Biosource marka TNF- $\alpha$  kiti ise Biotech firmasından (Camarillo, USA) temin edildi.

Sonuçlar karbonil düzeyi için  $\mu$ mol/L, MDA için pmol/L, TNF- $\alpha$  için pg/ml, SH için mg/dl, GSH için  $\mu$ g/dl olarak verildi.

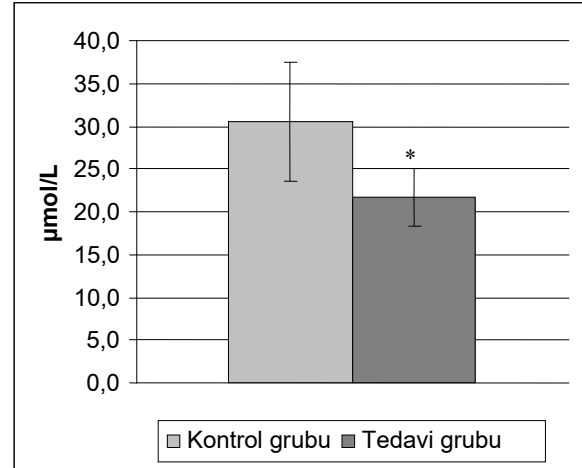
## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 9,0 paket programı kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar, ortalama  $\pm$  SD olarak verildi. İki bağımsız örneklem t testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi olarak  $p < 0,05$  kabul edildi.

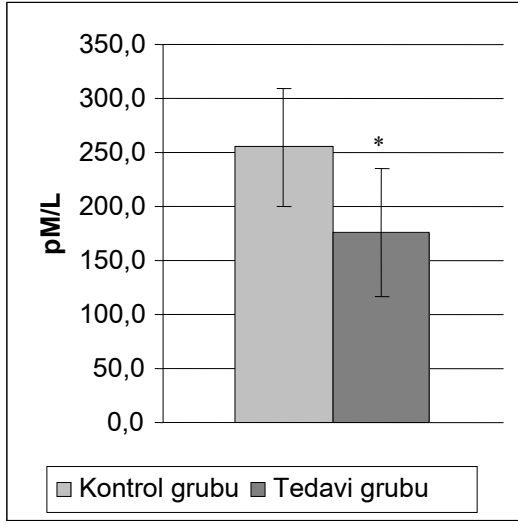
## SONUÇLAR

OA'li hastalara 3 doz Hylan GF-20 'nin intraartiküler olarak verilmesinden sonra hastaların klinik semptomlarında belirgin bir iyileşme görüldü.

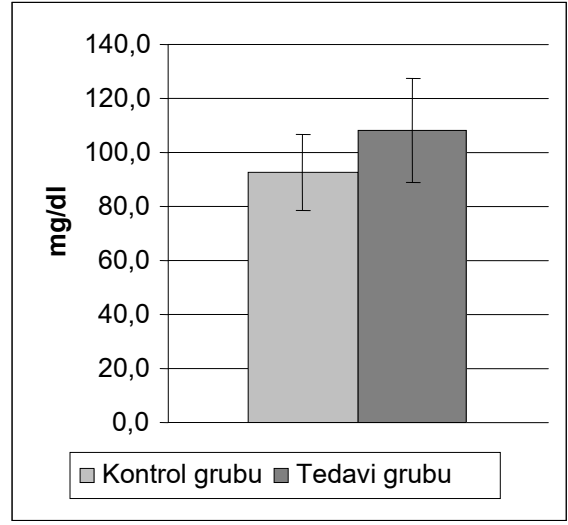
Tedavi grubu karbonil (30,5 $\pm$ 7  $\mu$ mol/L, 21,7 $\pm$ 3,3  $\mu$ mol/L;  $p < 0,01$ ), (Şekil 1), MDA (254,9 $\pm$ 54,5 pmol/L, 175,6 $\pm$ 59,7 pmol/L;  $p < 0,05$ ) (Şekil 2), ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin (4,2 $\pm$ 0,3 pg/ml, 3,7 $\pm$ 0,3 pg/ml;  $p < 0,01$ ) (Şekil 5), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Tedavi grubu GSH düzeylerinin (Şekil 3), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görüldü (110,2 $\pm$ 24,8  $\mu$ g/dl, 170,5 $\pm$ 67,6  $\mu$ g/dl;  $p < 0,05$ ). Tedavi grubu SH düzeylerinin (108,3 $\pm$ 19,2 mg/dl) (Şekil 4), ise kontrol grubuna (92,7 $\pm$ 14,2 mg/dl) göre hafif fakat istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmadığı görülmüştür.



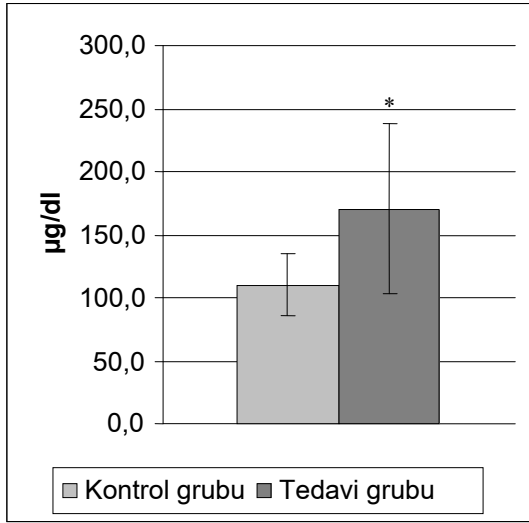
Şekil-1: Eklem sıvısının karbonil seviyeleri  
\* kontrol grubuna göre ( $p < 0,05$ )



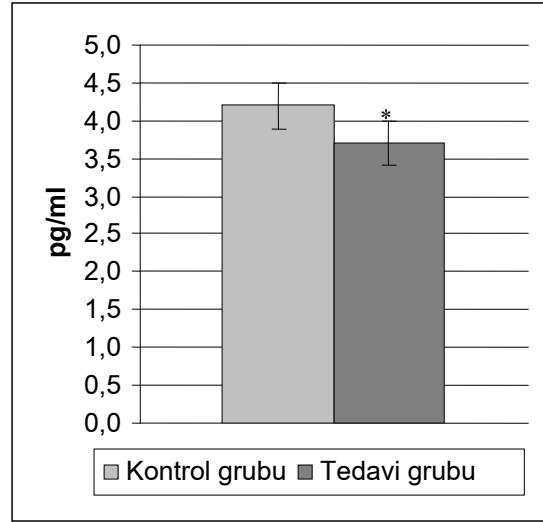
**Şekil-2:** Eklem sıvısının MDA seviyeleri  
\* kontrol grubuna göre (p<0.05)



**Şekil-4:** Eklem sıvısının SH seviyeleri



**Şekil-3:** Eklem sıvısının GSH seviyeleri  
\* kontrol grubuna göre (p<0.05)



**Şekil-5:** Eklem sıvısının TNF-α seviyeleri  
\* kontrol grubuna göre (p<0.05)

## TARTIŞMA

OA, kıkırdak dejenerasyonu ile karakterize kronik bir hastalıktır. Fiziksel özürülüğün de en önemli nedenlerinden olduğu için tanı konduktan sonra uygun tedavisi önem kazanır. Bu tedavi seçeneklerinden birisi de, kıkırdak yapımını uyarıcı ya da kıkırdak yıkımını inhibe eden kondroprotektif ilaçlardır. OA’te HA konsantrasyonu ve molekül ağırlığı düşük olduğu için hastaya ekzojen olarak kondroprotektif ilaçlardan olan HA verilmektedir.

Reaktif oksijen ürünleri (ROS), protein, lipid ve karbohidratlara saldırarak modifikasyonlara neden olurlar. En hassas bileşikler lipidlerdir. Lipid peroksidasyonu sonucunda aldehidler oluşur. Poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşur (34). MDA’nın saptanması, biyolojik membranlara serbest radikal hasarının bir göstergesidir (29).

Bu çalışmada MDA düzeyleri, tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalma gösterdi ( $p<0,05$ ). MDA düzeylerindeki anlamlı azalma, HA’in yapısında bulunan karboksilik grubun Fe ve Cu gibi geçiş metallerini bağlayarak Fenton reaksiyonunun oluşumunu engellemesinden kaynaklanabilir. Fenton reaksiyonu engellendiğinde  $H_2O_2$ ’den ‘OH oluşmaz. ‘OH’nin membran lipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerine saldırarak zincir reaksiyonunu başlattığı bilinmektedir. ‘OH oluşumunun engellenmesi ile membran lipidlerinin peroksidasyonu gerçekleşmez ve MDA düzeylerindeki azalma görülür (35).

ROS’nin proteinlere saldırısı sonucunda, karbonil grupları ortaya çıkar. Protein karbonil grupları, oksidatif stres markörlerinden biridir. Oksidatif modifikasyonun bir göstergesi olarak kabul edilirler. Karbonil gruplarının belirlenmesi, protein oksidasyonunun derecesi hakkında bilgi sağlar (35).

Bu çalışmada karbonil düzeyleri, tedavi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gösterdi ( $p<0,01$ ). Karbonil düzeylerindeki anlamlı azalma, HA’in geçiş metallerini bağlayarak Fenton reaksiyonu ile ‘OH oluşumunu engellemesi, ayrıca ROS’ni direk yakalayarak ROS’nin düzeylerini ve etkilerini azaltmasından kaynaklanabilir. ROS düzeylerinin azalması, protein oksidasyonunu da azaltacağından düşük karbonil düzeyleri saptanır.

TNF- $\alpha$ , monosit ve makrofajlardan salınan bir inflamatuvar sitokindir. OA’te yüksek düzeylerde bulunur. Kondrositleri uyarak ROS ve nitrik oksit salınımını artırır. Matris sentezini azaltıp, yıkımını artırarak kıkırdak dejenerasyonuna katkıda bulunur.

TNF- $\alpha$  düzeylerinin saptanması, inflamatuvar süreç hakkında bilgi verir. Bu çalışmada TNF- $\alpha$  düzeyleri, tedavi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gösterdi ( $p<0,01$ ) (Şekil 5). TNF- $\alpha$  düzeylerindeki anlamlı azalma, HA’in proinflamatuvar mediatörlerin aktivite ve sentezinin, ayrıca DNA düzeyinde sitokin gen ekspresyonunun azaltmasından kaynaklanabilir (36).

Xu ve arkadaşları (37) orta derecede ve ılımlı OA’li hastalarda sodyum hyalüronat tedavisinin MDA ve TNF- $\alpha$  düzeylerini düşürdüğünü ve klinik semptomlarda belirgin bir iyileşme sağladığını bildirmişlerdir.

Grigolo ve arkadaşları (38) da OA’li hastalardan izole ettikleri sinovial hücre kültürleri ile yaptıkları çalışmada MDA seviyelerinin yüksek olduğunu görmüşlerdir.

GSH, eritrosit membranı için hayati öneme sahip non enzimatik bir antioksidandır. Proteinlerde bulunan SH gruplarını redükte halde tutarak protein oksidasyonunu engeller. ROS ve peroksidlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur (34). Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )’in suya indirgenmesi sırasında önemli bir role sahiptir. GSH konsantrasyonu,  $H_2O_2$  oluşumuna karşı endojen savunmayı saptamak amacıyla bakılır (28). Bu çalışmada GSH düzeyleri, tedavi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdi ( $p < 0,05$ ).

HA’in geçiş metallerini şelatlayarak Fenton reaksiyonunu inhibe etmesi sonucu artan  $H_2O_2$ ’in glutatyon peroksidaz ile detoksifikasyonu esnasında GSH kullanımını artmaktadır. Bu durum GSH’un ekspresyonunu indüklemektedir. Bunun sonucunda GSH düzeylerinde artma olacaktır.

Carlo ve arkadaşları (39) insan artiküler kartilajlarında izole ettikleri kondrositlerle yaptıkları çalışmada ROS’nin GSH’yı tükettiğini saptamışlardır.

SH gruplarının belirlenmesi de, antioksidan kapasiteyi gösterir. Peroksinitrit, protein ve non-protein SH gruplarının oksidasyonuna neden olan kuvvetli bir oksidandır (35). HA, karboksilik grubu sayesinde Fenton reaksiyonunu engelleyerek ve aynı zamanda ROS’ni yakalayarak ROS’nin düzey ve etkilerini azaltır. Aynı zamanda nitrik oksit ve süperoksit anyonunun birleşmesiyle peroksinitrit oluşumunu da azaltır. Bu durumda SH gruplarının oksidasyonu da azalacağından redükte SH grupları artar. Bu çalışmada SH gruplarının düzeyleri, tedavi grubunda kontrol grubuna göre hafif bir artma gösterdi. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,087$ ).

Campo ve arkadaşları (29) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada kollajen enjekte ederek artrit modeli oluşturmuşlar ve daha sonra HA ile kondroitin sülfat preparatları vermişlerdir. Çalışmalarının sonucunda MDA düzeylerinin azaldığını, GSH düzeylerinin arttığını, TNF- $\alpha$  düzeylerinde azaldığını saptamışlardır. HA'nın yapısında bulunan karboksilik grubun Fe ve Cu gibi geçiş metalleri şelatlayarak Fenton reaksiyonu ile ROS oluşumunu engellediklerini, ayrıca ROS yakalayıcı etkilerinin de olduğunu savunmuşlardır (29). Bizim sonuçlarımız Campo ve arkadaşlarının sonuçlarıyla uyumludur.

Sezgin ve arkadaşları ise, diz OA'ı olan hastalara HA uygulamışlar, TNF- $\alpha$  düzeylerini etkilemediğini göstermişlerdir (40).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla, HA tedavisinin protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, antioksidan kapasiteyi artırdığı ve inflamasyonu azaltarak anti-inflamatuar etki gösterdiği söylenebilir. Sonuçta, klinik olarak ağrının azalması, fonksiyonel iyileşme gibi semptomatik rahatlama oluşması ve biyokimyasal parametrelerde görülen olumlu değişiklikler ile bu ilacın inflamasyon ve oksidatif stres üzerinde yararlı etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

1. Çalışma esnasında trafik kazasında kaybetmişimiz arkadaşımız Yrd. Doç. Eray BOZAN'a çalışmaya yaptığı katkılarından dolayı,

2. Halk Sağlığı A.D. Başkanı Doç. Doç. Reha DEMİREL'e ise istatistiksel analizi yaptığı için teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Şendur F, Berkit IK, Osteoarthritis rehabilitation. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2006; 2: 44-51.
- Cooper C. Osteoarthritis and related disorders-Epidemiology. In: Klippel JH, Dieppe PA (Ed): Rheumatology. Philadelphia: Mosby 1998. p.1-8.
- Kallman DA, Wigley FM, Scott WW. New radiographic grading scales for osteoarthritis of the hand: reliability for determining prevalence and progression. Arthritis Rheum, 1989; 32: 1584-1591.
- Martin JA, Buckwalter JA. Roles of articular cartilage aging and chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis. Iowa Orthop. J, 2001; 21: 1-7.
- Altman R, Asch E, Bloch D. The American College Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the knee. Arthritis Rheum, 1986; 29: 1039-1049.
- Dozin B, Malpeli M, Camardella L, Cancedda R, Pietrangelo A. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. Matrix Biol, 2002; 21: 449-459.
- Dieppe P. Osteoarthritis: Clinical features and diagnostic problems. In: Klippel JH, Dieppe P, eds. Rheumatology. Colchester: Mosley Year Books, 1994. p.1-16.
- Melchiorri C, Meliconi R, Frizziero L, Silvestri T, Pulsatelli L, Mazzetti I, et al. Enhanced and coordinated in vivo expression of inflammatory cytokines and NOS by chondrocytes from patients with osteoarthritis. Arthritis Rheum, 1998; 41: 2165-2174.
- Fujisawa T, Hattori T, Takahashi K, Kuboki T, Yamashita A, Takiga-wa M. Cyclic mechanical stress induces extracellular matrix degradation in cultured chondrocytes via gene expression of matrix metalloproteinases and interleukin-1. J.Biochem (Tokyo), 1999; 125: 966-975.
- Honda K, Ohno S, Tanimoto K, Ijuin C, Tanaka N, Doi T, et al. The effects of high magnitude cyclic tensile load on cartilage matrix metabolism in cultured chondrocytes. Eur. J. Cell Biol, 2000; 79: 601-609.
- Lee DA, Freaun SP, Lees P, Bader DL. Dynamic mechanical compression influences nitric oxide production by articular chondrocytes seeded in agarose. Biochem. Biophys. Res. Commun, 1998; 251: 580-585.
- Miyagi I, Kikuchi H, Hamanishi C, Tanaka S. Autodestruction of the articular cartilage and free radical mediators. J. Lab. Clin. Med, 1998; 131: 146-150.
- Smith MD, Triantafillou S, Parker A, Youssef PP, Coleman M. Synovial membrane inflammation and cytokine production in patients with early osteoarthritis. J Rheumatol, 1997; 24: 365-371.
- Haklar U, Yüksel M, Velioglu A, Turkmen M, Haklar G, Yalçın A.S. Oxygen radicals and nitric oxide levels in chondral or meniscal lesions or both. Clin Orthop Relat Res, 2002; 403: 135-142.
- Felson DT. The course of osteoarthritis and factors that affect it. Rheum Dis Clin North Am, 1993; 19: 607-615.
- 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. Arthritis Rheum, 1986; 29: 1039-1049.
- Lo YY, Conquer JA, Grinstein S, Cruz TF. Interleukin-1 $\beta$  induction of c-fos and collagenase

- expression in articular chondrocytes: Involvement of ROS. *J Cell Biochem*, 1998; 69: 19–29.
18. Henrotin Y, Deby-Dupont G, Deby C, Franchimont P, Emerit I. Active oxygen species, articular inflammation and cartilage damage. In: Emerit I, Chance B. Eds. *Free Radicals and Aging*. Basel: Birkhäuser verlag, 1992. p. 308–322.
  19. Henrotin YE, Bruckner P, Pujol J-PL. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2003; 11: 747–755.
  20. Borderie D, Hilliquin P, Hernvann A, Lemarechal H, Menkes CJ, Ekindjian OG. Apoptosis induced by nitric oxide is associated with nuclear p53 protein expression in cultured osteoarthritic synoviocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999;7: 203–213.
  21. Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H And Lotz M. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am. J. Pathol*, 1995; 146: 75–85.
  22. Blanco FJ, Guitian R, Vazquez-Martul E, De Toro F.J. and Galdo F. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum*, 1998; 41: 284–289.
  23. Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S. And Lotz M. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 1998; 41: 1632–1638.
  24. Blanco FJ and Lotz M. IL-1 induced nitric oxide inhibits chondrocyte proliferation via PG E2. *Exp. Cell Res*, 1995; 218: 319–325.
  25. Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson S. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1116–1121.
  26. Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu H And Evans C. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem. Biophys. Res Commun*, 1994; 200: 142–148.
  27. Murrell GA, Jang D And Williams RJ. Nitric oxide activates metallo-protease enzymes in articular cartilage. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 1995; 206: 15–21.
  28. Gür S, Dabak KT, Conservative treatment in cartilage. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 2006; 2: 57-60.
  29. Campo MG, Avenoso A, Campo S, Ferlazzo AM, Altavilla D, Calatroni A. Efficacy of treatment with glycosaminoglycans on experimental collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis Res Ther*, 2003; 5: 122–131.
  30. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent L, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*, 1990;186: 464–478.
  31. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979; 95: 351–358.
  32. Beutler E, Robson MJ, Bittenwieser E. The glutathione instability of drug sensitive red cells. *J Lab Clin Med*, 1957; 49: 84.
  33. Koster JF, Biemond P, Swaak JG. Intracellular and extracellular sulphhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.*, 1986; 45: 44–46.
  34. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Kuzucular Ofset, Konya, 1995. p. 32-41.
  35. Chapman ML, Rubin BR, Gracy RW. Increased carbonyl content of proteins in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 1989; 16: 15–18.
  36. Moreland LW. Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hyalans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action. *Arthritis Res Ther*, 2003; 5: 54–67.
  37. Xu P, Zhang Y, Yao J. Study on the effect of sodium hyaluronate intra-articular injection on the treatment of knee osteoarthritis. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2005; 19: 210-214.
  38. Grigolo B, Roseti L, Fiorini M, Facchini A. Enhanced lipid peroxidation in synoviocytes from patients with osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2003; 30: 345-347.
  39. Carlo MD Jr, Loeser RF. Increased oxidative stress with aging reduces chondrocyte survival: correlation with intracellular glutathione levels. *Arthritis Rheum*. 2003; 48: 3419-3430.
  40. Sezgin M, Demirel AC, Karaca C, Ortancil O, Ulkar GB, Kanik A, et al. Does hyaluronan affect inflammatory cytokines in knee osteoarthritis? *Rheumatol Int*, 2005; 25: 264-249.

