

Romatooid Artrit ve Osteoartrozlu Hastalarda Eritrosit Süperoksit Dismutaz, Glutatyon Peroksidaz ve Katalaz Enzim Düzeyleri

Mehmet Akdoğan*, Selami Akkuş**, Fatma Akkuş*, Ahmet Koyu***

Özet: Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan atom veya moleküllerdir. Bu eşleşmemiş elektronlar atom veya moleküllerin kimyasal reaktivitesini bozarak onları reaktif hale getirirler. Aktif fagositler tarafından, yabancı organizmaları öldürmek için büyük miktarda serbest radikal üretimi meydana gelir. Kronik inflamasyonlar esnasında bu normal koruyucu mekanizma, doku hasarına neden olacak düzeye gelebilmektedir. Son zamanlarda, serbest radikallerin immün sistem ve inflamasyonda önemli rolleri olduğu tanımlanmıştır.

Çalışmamızda, romatooid artrit ve diz osteoartriti olan hastalarla birlikte, sağlıklı kontrollerin eritrosit antioksidan enzim (SOD,GSH-Px,CAT) aktivitelerine bakılarak oksidatif stresin bu hastalıklardaki rolünün araştırılması amaçlandı.

RA'li hastalardaki SOD değerleri OA ve kontrol grubuna göre daha düşük idi (sırasıyla $t=1.96$, $p=0.06$, $t=3.89$ $p=0.0003$). GSH-Px aktiviteleri arasında ise, RA ile OA ve OA ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmazken (sırasıyla $t=.08$ $p=0.28$, $t=0.79$ $p=0.43$), RA ile kontrol grubu arasındaki fark az anlamlı idi ($t=1.97$ $p=0.05$). Buna göre, RA'li hastalarda GSH-Px aktivitesi kontrol grubundan daha düşük idi. CAT aktivitesi, RA'li grupta OA'e göre anlamlı olarak düşük iken ($t=2.15$ $p=0.04$), RA ile kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmedi ($t=1.07$ $p=0.29$).

RA'de antioksidan savunma sistemlerinden olan enzim aktivitelerinde azalma olmaktadır. Bu durum, bu enzimlerin reaksiyonlar esnasında fazla miktarda kullanılmasına veya serbest radikallerle inhibisyonuna bağlı olabilir.

Anahtar kelimeler: Romatooid artrit, osteoartrit, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz

Serbest radikaller, birçok fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar esnasında oluşabilen, eşleşmemiş elektronu bulunan atom veya moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronlar bu molekülleri oldukça reaktif hale getirerek, protein, lipid ve nükleik asitler gibi önemli yapıları tahrip edecek reaksiyonları başlatabilir (1,2,3,4). Bundan dolayı, bu radikallerin birçok hastalığın fizyopatolojisindeki önemi gün geçtikçe artmaktadır. Romatooid artrit (RA) ve daha geniş anlamda inflamasyon mekanizmasında bu radikallerin rolü olduğu kabul edilmektedir (5,6,7).

Romatooid artrit kronik, inflamatuvar bir hastalıktır. Sistemik tutulum yapmakla birlikte, RA'in karakteristik özelliği, periferik eklemleri simetrik olarak tutan persistan inflamatuvar sinovittir. Sinovyal inflamasyon zamanla kıkırdak harabiyetine ve kemik erezyonlarına

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD, Isparta

**Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ABD, Isparta

***Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD, Isparta

Yazışma adresi: Yrd. Doç. Dr. Mehmet AKDOĞAN

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD, Isparta

neden olarak kalıcı eklem deformitelerine yol açar (6,7,8). Osteoartrit (Osteoartroz) ise, eklem kıkırdağında başlayan ve zaman içerisinde eklem yapısında bulunan diğer yapıları etkileyen dejeneratif bir hastalıktır. Kartilaj matris sentezi ile yıkımı arasındaki dengenin yıkım lehine bozulması hastalığın patogenezinin sorumlu tutulur. Bu olayda serbest oksijen radikallerinin etkisi olduğu ileri sürülmektedir. Artiküler kartilaj üzerine süperoksit radikallerinin yaptığı zararlı etkilerin rekombinant süperoksit dismutaz tarafından önlenemediği gösterilmiştir (9).

Hastalığın patogenezi hakkında çeşitli teoriler ileri sürülmekle birlikte, henüz tam olarak nedeni anlaşılamamıştır. 1960'larda plazma protein faktörleri, 1970'lerde prostaglandin ve lökotrien çalışmaları ve daha sonraki yıllarda sitokinler üzerinde yapılan çalışmalar hastalığın etiopatogenezi hakkında tatmin edici açıklamalar ortaya koymamıştır. Serbest radikallerin romatooid artrit patogenezi üzerindeki etkilerinin araştırılması ise son 20 yıldır devam etmektedir (7,8,10,11). Serbest radikaller ve serbest radikal ürünleri inflamasyonun önemli mediatörlerindedir (6,7).

Romatoid artritin patogenezi üzerinde serbest radikallerin etkileri ile ilgili çalışmalar mevcut olmakla birlikte, bu çalışmalar daha çok normal kontrol grupları ile yapılmıştır (12,13,14). Eklemli ilgilendiren diğer kronik hastalıklar ile karşılaştırmalı çalışmalar yeterli değildir (11). Bu amaçla çalışmamızda romatoid artritli ve diz osteoartrozu (osteoartriti) olan hastalarla birlikte normal olgularda, eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) düzeylerine bakılarak bu hastalıklardaki oksidatif stresin etkileri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada kontrol (K) grubu olarak hiçbir fiziksel şikayeti olmayan sağlıklı 32-60 yaşları arasındaki 7 erkek 23 kadına ait 30 kan örneği kullanılmıştır. Hasta grubunu, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Polikliğinde tedavi gören 32-70 yaşları arasındaki 6 erkek 24 kadın toplam 30 romatoid artritli hasta ile 3 erkek, 27 kadın toplam 30 gonartroz (osteoartroz)'lu hasta oluşturmuştur. Tüm olgulardan sabah aç karnına EDTA.'li tüplere alınan kan örnekleri derhal santrifüj edilip plazmaları ayrıldıktan sonra kalıntı üç kez %0,9 NaCl çözeltisi ile yıkanarak eritrositler ayrılmış ve hemen 1:5 oranında soğuk bidistile su ile hemoliz edilmiş ve elde edilen hemolizatlardan aynı gün içinde analizleri yapılmıştır. Ayrıca, tüm olgulardan kan sayımı, sedimentasyon, rutin biokimya testleri, tam idrar, CRP ve RF tetkiklerine bakıldı.

Glutatyon Peroksidaz Tayini: Glutatyon peroksidaz tayini için Randox marka ticari kit kullanıldı. Deneyin prensibi Paglia ve Valentine'nin metoduna dayanmaktadır (15). NADPH'nin azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı. U/L cinsinden bulunan enzim aktivitesi dilüsyon katsayısı olan 41 ile çarpıldıktan sonra, hemoglobine bölünerek U/gHb cinsinden hesaplamalar yapıldı. Okumalar kit prospektüsüne uygun olarak yapıldı.

Süperoksit Dismutaz Tayini: Süperoksit dismutaz tayini, Randox marka ticari kit kullanılarak yapıldı. Deneyin prensibi Williams ve ark.'nın metoduna dayanmaktadır (16).

Çalışma kit prospektüsüne uygun şekilde yapılarak, sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$100 - \left(\frac{\nabla A(\text{numune})}{\text{dakika} \times 100} \right) / \left(\frac{\nabla A(\text{kör})}{\text{dakika}} \right) = \% \text{inhibisyon}$$

Herbir standardın konsantrasyonuna karşı, yüzde inhibisyonu ile çizilen eğriden enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu. Bu değerler dilüsyon katsayısı olan 500 ile çarpılıp hemoglobine bölünerek U/gHb cinsinden hesaplandı.

Katalaz Tayini: Katalaz tayini Aebi metoduna dayanarak yapıldı (17). Heparinli kanlar santrifüj edilerek plazma ve lökositleri ayrıldı. Eritrosit sedimenti izotonik NaCl ile 3 kez yıkandı. Yaklaşık 5g Hb/100ml su içeren stok hemolizat hazırlandı. Bu konsantre hemolizat deneyden hemen önce hazırlandı ve hemoglobin miktarı iki defa tayin edildi. Numune (2ml hemolizat ve 1 ml H₂O₂), köre karşı (substrat yerine 1 ml fosfat tamponu ve 2 ml hemolizat) 240 nm'de okundu. (30 sn) Absorbanstaki düşüş kaydedildi. Reaksiyonun hız sabiti kullanılarak (u/gHb) katalazın spesifik aktivitesi ölçüldü.

İstatistiksel analiz: Sonuçlar SPSS paket programı kullanılarak değerlendirildi. Karşılaştırmalar Student's t testi ile yapıldı.

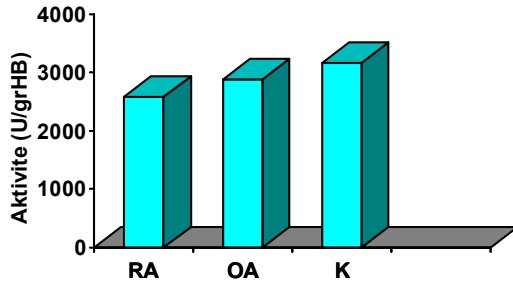
Bulgular

Çalışmaya alınan bireylerin yaş ortalamaları, kontrol grubunda; 48.16±11.32, RA'li grupta; 46.21±8.40 ve OA.'li grupta 52.17±14.24 olarak saptandı. Olguların Hb, sedimentasyon, CRP ve RF değerleri Tablo I'de gösterilmiştir. Buna göre, sedimentasyon, CRP ve RF değerleri RA'li hastalarda, OA ve kontrol grubuna göre yüksek idi.

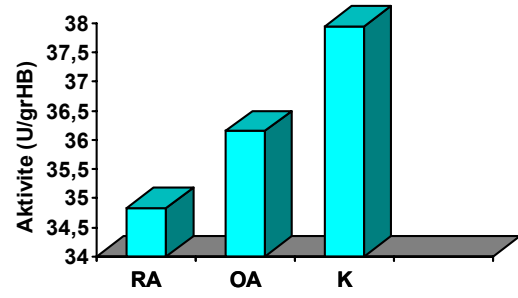
SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri sırasıyla kontrol grubu: 3163.06±256±24 Ü/gr.Hb, 37.94±6.42 Ü/gr.Hb ve 10176.70±843.60 Ü/gr.Hb, romatoid artritli hastalar-da 2582.56±775.21, 34.84±5.76, 9895.56±1627.67, osteo-artrozlu hastalarda 2883.86±333.72, 36.15±6.79 ve 10389.63±692.36 bulundu.

Yapılan student's testi analizinde SOD-RA ile SOD-OA arasında (t=1.96, p=0.06) önemli fark bulundu, SOD-RA ile SOD-K arasında (t=3.89, p=0.0003) ve SOD-OA ile SOD-K arasında (t=3.63, p=0.0006) son derece öneml fark tespit edildi. GSH-Px-RA ile GSH-Px-OA arasında (t=1.08, p=0.28), GSH-Px-OA ile GSH-Px-K arasında (t=0.79, p=0.43) anlamlı bir fark bulunmazken GSH-Px-RA ile GSH-Px-K arasındaki fark (t=1.97, p=0.05) az anlamlı bulundu. CAT-RA ile CAT-OA arasındaki (t=2.15, p=0.04) fark anlamlı iken CAT-RA ile CAT-K arasındaki (t=1.07, p=0.29) fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Yapılan korelasyon analizinde CRP-RA ile SOD-RA ortalaması arasında, CRP-RA ile GSH-Px-RA, SOD-K ile CAT-K arasında sırasıyla (r=0.885, 0.772, 0.743)



Şekil I. Her üç gruptaki SOD değerleri.



Şekil II. Her üç gruptaki GSH-Px değerleri.

Tablo I. Tüm Grupların Hb, sedim, CRP ve RF değerleri.

| | Hb | Sedimentasyon | CRP | RF |
|---------|------------|---------------|-------------|--------------|
| RA | 13.09±1.7 | 52.77±29.57 | 29.80±21.30 | 122.67±65.55 |
| OA | 13.88±1.35 | 23.53±14.94 | 4.00±12.74 | 4.00±16.10 |
| Kontrol | 13.7±1.45 | 16.54±5.80 | 4.00±3.20 | 5.40±3.60 |

Tablo II. RA grubu ile K grubunun karşılaştırılması.

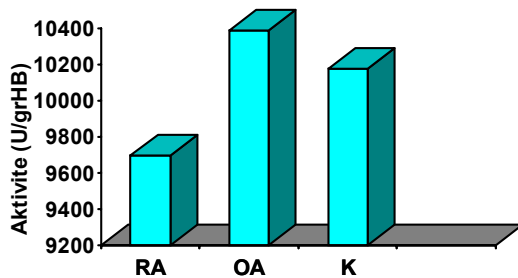
| | SOD U/gr Hb | GSH-Px U/gr Hb | CAT U/gr Hb |
|----|----------------|----------------|-----------------|
| RA | 2582.56±775.21 | 34.84±5.76 | 9695.56±1627.87 |
| K | 3163.06±256.24 | 37.94±6.42 | 10176.70±843.60 |
| t | 3.89 | 1.97 | 1.44 |
| p | 0.0003 | 0.05 | 0.15 |

Tablo III. RA grubu ile OA grubunun karşılaştırılması.

| | SOD U/gr Hb | GSH-Px U/gr Hb | CAT U/gr Hb |
|----|----------------|----------------|-----------------|
| RA | 2582.56±775.21 | 34.84±5.76 | 9695.56±1627.87 |
| OA | 2883.86±333.72 | 36.15±6.79 | 10389.63±692.36 |
| t | 1.96 | 1.08 | 2.15 |
| p | 0.06 | 0.28 | 0.04 |

Tablo IV. OA grubu ile K grubunun karşılaştırılması

| | SOD U/gr Hb | GSH-Px U/gr Hb | CAT U/gr Hb |
|----|----------------|----------------|-----------------|
| OA | 2883.86±333.72 | 36.15±6.79 | 10389.63±692.36 |
| K | 3163.06±256.24 | 37.94±6.42 | 10176.70±843.60 |
| t | 3.63 | 0.79 | 1.07 |
| p | 0.0006 | 0.43 | 0.29 |



Şekil III. Her üç gruptaki CAT değerleri.

kuvvetli bir ilişkinin olduğu görüldü. Tablo II,III,IV'de grupların karşılaştırılması, Şekil I,II,III'de sütun grafikleri gösterilmiştir.

Tartışma

Romatoid artrit kronik, inflamatuvar ve sistemik bir bağ dokusu hastalığıdır. Normal sinovyal sıvıda mononükleer hücre hakimiyeti varken, romatoid artritli sinovyal sıvıda baskın hücre polimorfonükleer lökositler (PML)'dir. PML'lerde, fagositoz esnasında süperoksit anyonlan meydana gelmekte ve bu anyonlar, bağ

dokusu elemanları üzerine zararlı etkiler oluşturmaktadır. Hyalüronik asid depolimerize olur, ve proteoglikanlar ve kollajen parçalanır (18,19). Bu sonuçlar, PML'ler tarafından üretilen süperoksit radikallerinin artritteki kartilaj zedelenmesinde önemli rol oynadığı göstermektedir. Bu çalışmada romatoid artritli hastalarda saptanan düşük antioksidan düzeyleri (SOD başta olmak üzere), gelişen antioksidan yanıtı açıklamaktadır. Kıkırdak makromoleküllerinin parçalanmasına neden olan süperoksit radikallerini uzaklaştırmak için SOD antioksidan olarak kullanılmaktadır. Osteoartroz, eklem kıkırdağında başlayan ve zaman içerisinde eklem yapısında bulunan diğer yapıları etkileyen dejeneratif bir hastalıktır. Kartilaj matriks sentezi ile yıkımı arasındaki dengenin yıkım lehine bozulması hastalığın patogenezinin sorumlu tutulur. Bu olayda serbest oksijen radikallerinin etkisi olduğu ileri sürülmektedir. Artiküler kartilaj üzerine süperoksit radikallerinin yaptığı zararlı etkilerin rekombinant SOD tarafından önlenemediği gösterilmiştir (9).

Bu çalışmada, eklemleri ilgilendiren inflamatuvar (RA) ve non- inflamatuvar (OA) kronik hastalığı olan bireyler ile birlikte sağlıklı kişiler üzerinde, eritrosit SOD, GSH-Px ve CAT düzeylerine bakılarak oksidatif stresin etkisi araştırıldı.

Süperoksit dismutaz (SOD), endojen olarak oluşturulan süperoksit radikallerinin toksik etkilerinden hücreleri koruyan bir grup metalloenzimdir. SOD süperoksitin hidrojen perokside dönüşümünü katalizler ve oksiradikallere karşı primer koruyucudur. Bu nedenle yapılan çalışmalar daha çok SOD aktiviteleri ile ilgilidir. Scudder ve ark. romatoid artritte kontrol grubuna göre eritrosit SOD aktivitelerinde anlamlı bir fark bulamazken (12), Banford ve ark. romatoid artritli hastalarda eritrosit SOD aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli derecede düşüş bulmuşlardır (13). Scudder ve ark. yaptıkları çalışmada SOD aktivite tayin metodları ve romatoid artritli hastaların özellikleri hakkında detaylı bilgi verilmemiştir.

Çalışmamızda romatoid artrit ve osteoartrozlu hastalarda SOD değerlerini kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulduk. RA'li hastalardaki SOD aktivite düşüklüğü Banford ve ark. bulguları ile uyumludur. Bu çalışmada SOD düzeyleri ile hemoglobin (Hb) değerleri arasında korelasyon olduğu bildirilmekle beraber değerleri arasında korelasyon tespit edemedik. Banford ve arkadaşları (13) SOD aktivitelerini tam kanda çalışmışlardır, biz ise eritrosit SOD

aktivitesini tayin ettik. Tam kanda çalışılan değerler, hematokritin etkisi ile eritrosit aktivitesini yansıtmamaktadır. İki çalışma arasındaki bu farklılık muhtemelen SOD aktivitesini farklı tayin yönteminden kaynaklanmaktadır.

Süperoksit dismutazdan başka, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksiradikallere karşı defans sisteminde rol alan enzimlerdir. GSH-Px ve CAT, SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksidi dokulardan uzaklaştıran reaksiyonlarda rol alırlar. Bu nedenle antioksidan defansta önemli role sahiptirler. GSH-Px glutatyon okside hale getiren reaksiyonu katalizler. Glutatyon aynı zamanda, inflamatuvar hadiselerde rol alan lökotrien sentezinde önemli role sahiptir. Bundan dolayı çalışmamızda SOD aktivitesi ile birlikte, GSII-Px ve CAT aktiviteleri de çalışıldı. CAT aktivitesi SOD'de olduğu gibi RA'de OA'lı gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu. GSH-Px aktivitesinde ise RA ve OA grupları arasında bir fark bulunamadı. Bununla birlikte, RA'li grupta GSH-Px aktivitesi kontrol grubuna göre düşük idi. İmadaya ve ark. RA'li ve OA'lu hastalar üzerinde SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerini çalışmışlar, buna göre RA'lı hastaların enzim aktivitelerini OA'lu hastalara göre anlamlı derecede düşük bulmuşlardır (11). İmadaya ve arkadaşlarının çalışmasında sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu kullanılmıştır.

Mezes ve ark. (14) RA'de GSH-Px aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli derecede artış olduğunu bildirmişlerdir. İmadaya ve ark. çalışmasında ise GSI-I=Px değerleri OA grubuna göre önemli derecede düşük bulmuşlardır. Bu iki araştırma arasındaki tezat sonuç RA aktiviteleri arasındaki farktan kaynaklanabilir. İki çalışmanın sedimentasyon değerleri sırasıyla 30 ± 5 mm/h, 101 ± 29 mm/h dir. Bizim çalışmamızda değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunurken ($p=0.05$), RA ile OA grupları arasında GSH-Px değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.28$). Çalışmamızdaki RA'li hastaların sedimentasyon değerleri 52.77 ± 29.57 olarak tespit edildi.

RA, OA ve normal kontrol grupları üzerinde serum ve sinovyal sıvı SOD aktivitesinin çalışıldığı bir diğer çalışmada, her üç grubun serum SOD düzeyleri arasında önemli fark olmadığı, buna karşın sinovyal sıvı SOD aktivitesinin RA'li grupta OA'li gruba kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir (20). İgari ve ark.'nın yapmış olduğu bu çalışmada RA'li hastalarda SOD aktivitesi ile C-Reaktif Protein (CRP) arasında önemli bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda SOD ve GSH-

Px aktivitesi ile CRP arasında korelasyon varlığını tespit ettik. Bununla birlikte SOD ve diğer enzim aktiviteleri ile romatoid faktör (RF) arasında korelasyon bulunamadı. Youssef ve ark. (10), RA'li ve kontrol grupları üzerinde lökosit SOD aktivitesini çalışmışlardır. Bu çalışmada da SOD aktivitesi ile RF arasında korelasyon olmadığı bildirilmiştir.

Literatürde Imadaya ve ark. (11)'nin çalışması dışında RA'li hastaların eritrositlerinde her üç enzimin birarada çalışıldığı başka bir yayına rastlanmadı. Bizim bulgularımız RA'li hastaların eritrositlerinde tayin edilen bu enzimlerin OA ve kontrol grubu ile kıyaslandığında RA'li hastalarda düşük olduğunu göstermektedir.

Superoxide Dismutase, Glutathion Peroxidase and Catalase Levels in Patient with Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis

Abstract: *A free radical is any atom or molecule that contains one or more unpaired electrons. The unpaired electrons alter the chemical reactivity of an atom or molecule, usually making it more reactive than the corresponding non-radical. Activated phagocytes generate large amounts of free radicals as part of the mechanism by which foreign organisms are killed. During chronic inflammations this normal protective mechanism may become damaging. Researchers now recognise that free radicals are critical players in immune system and the process of inflammation.*

Our study was undertaken in an attempt to determine the activities of antioxidant enzymes (SOD, GSH-Px, CAT) in erythrocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis (RA), osteoarthritis (OA) of knee joints and, as control, from healthy volunteers.

In patients with RA, median SOD activity was lower than patients with OA and controls ($t=1.96$ $p=0.06$, $t=3.89$ $p=0.0003$ respectively). GSH-Px activity in RA was lower than control ($t=1.97$ $p=0.05$). While, the activity of CAT in RA was significantly lower than OA, there was no significant difference between RA and control groups ($t=2.15$ $p=0.04$, $t=1.07$ $p=0.29$ respectively).

Decreased antioxidant enzyme activities were established in patients with RA. The decrease in enzyme levels may be explained as these enzymes were used excessively in chemical reactions, or were inhibited by free radical generation.

Key words: *Rheumatoid arthritis, osteoarthritis, superoxide dismutase, glutathion peroxidase, catalase.*

Kaynaklar

1. Freeman BA, Crapo JD: Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-26.

2. Lunec J, Blake D: Oxygen free radicals: Their relevance to disease processes. In: Cohen D, Lewis B, Albert KGMM. The metabolic and molecular basis of acquired disease. Balliere Tindall, London 1990: 189-212.
3. Halliwell B: Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause, consequence? The Lancet 344: 721-24, 1994.
4. Erden M: Serbest radikaller. T Klin Tıp Bilimleri Dergisi 12: 201-7, 1992.
5. Barbor DA, Harris SR: Oxygen free radicals and antioxidants: A review. Am. Pharmacy 34(9): 26-35, 1994.
6. Jasin HE: Mechanism of tissue damage in rheumatoid arthritis. In: Arthritis and Allied Conditions. In Textbook of Rheumatology. Ed Koopman WJ. Williams Wilkies. Baltimore, 1997: 1017-1036.
7. Greenwald RA: Oxygen radicals, inflammation, and arthritis: pathophysiological considerations and implications for treatment. Seminars in Arthritis and Rheum 1991; 20(4): 219-40.
8. Das UN: Interaction(s) between essential fatty acids, eicosanoids, cytokines, growth factors and free radicals: relevance to new therapeutic strategies in rheumatoid arthritis and other collagen vascular diseases. Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty acids 1991; 44: 201-10.
9. McIlwain H, Silvefield JC, Cheatum DE: Intraarticular Orgotein in osteoarthritis of knee: a placebo controlled efficacy, safety, and dosage comparison. Am J Med 87: 293-300, 1989.
10. Youssef AR, Baron DN: Leukocyte superoxide dismutase in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1983; 42: 558-62.
11. Imadaya A, Terasawa K, Tosa H: Erythrocyte antioxidant enzymes are reduced in patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol 15(11): 1628-31, 1988.
12. Scudder P, Stocks J, Dormandy TL: The relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and erythrocyte copper levels in normal subjects and in patients with rheumatoid arthritis. Clin Chim Acta 69: 397-403. 1976.
13. Banford JC, Brown DH, Hazelton RA et al: Serum copper and erythrocyte superoxide dismutase in rheumatoid disease. Ann Rheum Dis 41: 454-62, 1982.
14. Mezes M, Bartosiewicz G: Investigations on vitamin E and lipid peroxide status in rheumatic diseases. Clin Rheumatol 1983; 2: 259-63
15. Paglia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med, 70(19): 158-169, 1967.
16. Williams JA, Wiener G, Anderson PH: McMurray CH. Res Vet Sci 34: 253-56, 1983.

17. Aebi H: Catalase in vitro. *Enzymol* 1984;105:121-6
18. Greenwald RA, Moy WW: Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis and Rheum* 32(4):455-62, 1980.
19. Pinals RS: Pharmacologic treatment of osteoarthritis. *Clin Ther* 14 (3): 336-46, 1992.
20. Igari T, Kaneda H, Houruchi S, Ono S: A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patient with rheumatoid arthritis. *Clin Orthop and Related Research* 162: 282-7, 1982.