

Ankilozan Spondilit Hastalarının Serum Oksidan-Antioksidan Seviyeleri

The Level of Serum Oxidant-Antioxidant in Patients with Ankylosing Spondylitis

Volkan Kocabaş¹, Hilal Kocabaş², Mustafa Kemal Başaralı³, İlhan Sezer⁴, Cahit Kaçar⁵, Sadık Büyükbaş⁶

¹T.C.S.B. Konya Beyhekim Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, Konya

²T.C.S.B. Konya Eğitim Araştırma Hastanesi, Romatoloji Bölümü, Konya

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır

⁴T.C.S.B. Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Romatoloji Bölümü, Antalya

⁵Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, Antalya

⁶Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

Özet

Ankilozan spondilit (AS) aksiyal iskeletin ve periferik eklemlerin kronik, progresif ve inflamatuvar hastalığıdır. İnflamatuvar hastalıklarda proinflamatuvar sitokinlerin yapımının artması oksidatif stres mediatörlerinin artışı ile birliktelik gösterir. Oksidatif stresin AS patogenezindeki rolü tam olarak açıklanmamıştır. Biz çalışmamızda AS'li hastaların serum oksidan ve antioksidan seviyelerini, bu seviyelerin hastalık aktivitesi ile olan ilişkisini ve sulfasalazin tedavisinin bu seviyelere olan etkisini araştırdık. Çalışmamıza 30 AS hastası ve yaş ve cinsiyet açısından denk 30 kontrol alındı. Hasta ve kontrol grubunun malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), ksantin oksidaz (XO), süperoksit dismutaz (SOD), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) değerlerine bakıldı. AS hastalarında Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (BASDAI) hesaplandı. İki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktiviteleri hasta grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksekken NO değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı. İnaktif ve aktif grup arasında NO, MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı. İnaktif grupta ise sadece SOD aktivitesi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti. Aktif grupta ise MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanırken NO değerlerinde anlamlı farklılık yoktu. Oksidan/antioksidan seviyeleri ile hastalık aktivite kriterleri olan ESR, CRP ve BASDAI arasında korelasyon bulunmadı. Sulfasalazin tedavisi alan ve almayan hastalar arasında oksidan/antioksidan seviyeleri açısından farklılık yoktu. Bu çalışmanın sonucunda Ankilozan spondilit hastalarında oksidatif stresin arttığını saptadık. Buna bağlı olarak oksidatif stresi azaltabilecek etkili bir antioksidan terapi AS hastalarında mevcut tedaviye ek bir tedavi seçeneği olabilir.

Anahtar kelime: Ankilozan spondilit, malondialdehit, süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz, nitrik oksit.

Abstract

Ankylosing spondylitis (AS) is a chronic, progressive and inflammatory disease of axial skeleton and peripheral joints. The increase of proinflammatory cytokines production in inflammatory diseases is associated with increased in oxidative stress mediators. The role of oxidative stress in the pathogenesis of AS has not been fully explained. In our study we investigated oxidant and antioxidant level of AS patients and compared this level with disease activity and the effect of sulphasalazine treatment to this level. Thirty AS patients and age and sex matched 30 controls were included in our study. Malondialdehyde (MDA), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), nitric oxide (NO) erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) were evaluated. Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) was calculated for AS patients. There was no statistically significant difference in age and sex between two groups. MDA levels and XO and SOD activities significantly higher in the patient group, while no significant differences were detected in NO values. Between inactive and active group, statistically significant difference between NO, MDA levels and XO, SOD activities were not detected. Only SOD activity in the inactive group is was significantly higher than control group. MDA levels and XO and SOD activities in the active group are significantly higher than the control group when NO values did not differ significantly. There was no correlation between Oxidant / antioxidant levels and disease activity criteria, ESR, CRP and BASDAI was found. Oxidant / antioxidant levels did not differ among patients who are taking or not taking sulphasalazine in the treatment. As a result of this study increase in oxidative stress were found in patients with ankylosing spondylitis. In this context, an effective antioxidant therapy which may reduce oxidative stress in patients with AS may be an additional treatment option.

Key words: Ankylosing spondylitis, malondialdehyde, superoxide dismutase, xanthine oxidase, nitric oxide.

GİRİŞ

Ankilozan spondilit (AS) aksiyal iskeletin ve periferik eklemlerin kronik, progresif ve inflamatuvar hastalığıdır (1). Her ne kadar tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da patogenezinde genetik, çevresel, immünolojik faktörler

rol oynamaktadır (2). Son yıllarda yapılan çalışmalarda romatoid artrit (RA), Behçet hastalığı gibi inflamatuvar hastalıkların patogenezinde oksidatif stresin rolü olduğuna dikkat çekilmektedir (3-6). İnflamatuvar hastalıklarda proinflamatuvar sitokinlerin yapımının artması genellikle nitrik

oksit ve malondialdehit gibi oksidatif stres mediatörlerinin artışı ile birliktelik gösterir (7,8). Oksidatif stresin AS patogeneziindeki rolü tam olarak açıklanmamıştır. Biasi ve arkadaşları AS'nin aktif döneminde anormal derecede yüksek nötrofil göçü olduğunu ve bu hastalarda dolaşımdaki nötrofillerle reaktif oksijen radikallerine cevabın arttığını göstermişlerdir (9). AS hastalarının oksidatif ve antioksidatif durumunu değerlendiren çalışma sayısı ise sınırlıdır (10-11). Bu çalışmalarda değerlendirilen hastalar tedavi almayan hastalar olmuştur. Metotreksat, sulfasalazin gibi hastalık modifiye eden anti romatizmal ilaçların (DMARDS) oksidan/antioksidan metabolizmayı etkilediği düşünülmektedir (12). Biz çalışmamızda AS'li hastaların serum antioksidan ve serbest oksijen radikalleri seviyelerini, bu seviyelerin hastalık aktivitesi ile olan ilişkisini ve sulfasalazin tedavisinin bu seviyelere olan etkisini araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD polikliniğine başvuran Ankilozan spondilitli Newyork kriterlerine uyan 30 hasta ve yaş ve cinsiyet bakımından benzer 30 sağlıklı kontrol alındı (13). Sigara içen, oksidan/antioksidan seviyesini etkileyen ilaç kullanan ve sulfasalazin dışında hastalık modifiye edici ajan tedavisi alan hastalar çalışma dışı bırakıldılar. Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaç kullanımı ise ihmal edildi. Sağlıklı grup ise sigara içmeyen ve oksidan/antioksidan seviyesini etkileyen ilaç kullanımı olmayan yaş ve cinsiyet açısından denk kişilerden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubun malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), ksantin oksidaz (XO), süperoksit dismutaz (SOD), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) (Westergreen metod) ve C-reaktif protein (CRP) değerlerine bakıldı. AS hastalarında Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (BASDAİ) hesaplandı. BASDAİ hastalık aktivitesinde inflamasyonu gösteren, hasta bildirimli sorulara alınan yanıtlardan oluşan kompozit bir indekstir (14). Hastalardan klinik değerlendirilmesi laboratuvar değerlendirmesi için kan alındığı gün yapıldı. Tüm hastaların çalışma öncesinde yazılı ve sözlü onayları alındı. CRP>1 mg/dL ve ESR>30 olan hastalar aktif, değerleri daha düşük olan hastalar ise inaktif olarak kabul edildi.

Hastalardan 12 saatlik gece açlığı sonrasında venöz kanları antikoagülan içermeyen tüplere alındı, oda ısısında 30 dakika süre ile kanların pıhtılaşması beklendikten sonra 2500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Serum örnekleri analiz edilinceye kadar - 80°C derecede saklandı.

Malondialdehit analizi

Sıcakta tiobarbitürik asit (TBA) ile MDA reaksiyonu prensibine göre analiz edildi (15). Asit ortamda tiobarbitürik asit ile 90 °C'de reaksiyona giren MDA, pembe renkli bir kromojen oluşturdu. Bu rengin şiddeti ortamdaki MDA ile orantılı olup spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Sonuçlar TBA-MDA kompleksinin ekstinksiyon katsayısından yararlanılarak nmol / mL cinsinden hesaplandı.

Nitrik Oksit analizi

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, çalışmalarda nitrit ve nitrat

olarak ifade edilmektedir (16). Nonspesifik reaksiyonların önüne geçebilmek amacıyla numuneler önce deproteinize edilip daha sonra total nitrit (nitrit ve nitrat) seviyeleri ölçüldü. NO analizi Griess reaksiyonu ile belirlendi (17). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirilerek reaksiyon sonu oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile sonuçlar mikromol/L olarak belirlendi.

Ksantin oksidaz analizi

Ksantin oksidaz aktivitesi Prajda ve arkadaşlarının yöntemine göre çalışıldı (18). Bu uygulamada XO aktivitesi; numunedeki bulunduğu farzedilen XO'ın ortamdaki ksantinden ürik asit oluşturması esasına dayanır. Oluşan ürik asit miktarı, %100'lük TCA solüsyonunun eklenmesi ile sabitlendi. Spektrofotometrede 293 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçüldü. Böylece 30 dakika içerisinde üretilen ürik asit miktarı belirlendi ve XO aktivitesi U/mL olarak hesaplandı.

Süperoksit dismutaz analizi

Total (Cu-Zn ve Mn) SOD aktivitesi ölçümleri Sun ve arkadaşlarının yöntemine uygun olarak Durak ve arkadaşlarının modifikasyonuna göre gerçekleştirildi (19,20). Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur ve 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Enzim olmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Fakat ortamda SOD olduğunda enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzim bulunmayan kör değeri ile enzim bulunan numune absorbans değerleri hesaba katılarak enzimin % inhibisyonu hesaplandı. NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesi bir SOD ünitesi olarak kabul edilerek ve sonuçlar U/mL olarak belirlendi.

İstatistik Değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS-15 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak her iki grubun birbirleri ile karşılaştırılmalarında Mann Whitney U testi, korelasyonlar için ise Spearman korelasyon testi uygulandı. Alt grupların karşılaştırılmasında Bonferoni düzeltmesine dayanarak p<0,016 (0,05/3), diğer karşılaştırmalarda ise p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Hasta (aktif, inaktif) ve sağlıklı grubun demografik, klinik ve laboratuvar verileri Tablo 1'de verilmiştir. Hasta ve sağlıklı grup arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak farklılık yoktu. MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktiviteleri hasta grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekken NO değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla p=0,001; p<0,001; p<0,001; p=0,433). İnaktif ve aktif grup arasında NO, MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan farklılık saptanmadı. İnaktif grupta sadece SOD aktivitesi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti (p<0,001), aktif grupta ise MDA seviyeleri ile XO ve SOD aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanırken (sırasıyla; p=0,001; p<0,001; p<0,001) NO değerlerinde anlamlı farklılık yoktu (p=0,859) (Tablo 2).

Tablo 1. Hasta (aktif, inaktif) ve sağlıklı gruptan elde edilen veriler

	Aktif hastalar(n=17)	İnaktif hastalar (n=13)	Sağlıklı grup (30)
Yaş (yıl)	42,18 (25-64)	46,23 (30-60)	40.46±5.36
Cinsiyet (E/K)	14/3	8/5	16/14
ESH (mm/saat)	60,59 (27-96)	25,0 (10-34)	NA
CRP (mg/dL)	2,78 (1,07-8,02)	0,57 (0,19-0,97)	NA
Hastalık süresi (yıl)	14,52 (1-40)	24 (3-45)	-
BASDAİ	5,00 (0-8.18)	4,27 (1,75-9.34)	-

BASDAİ : Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi

Oksidan/antioksidan seviyeleri ile hastalık aktivite kriterleri olan ESR, CRP ve BASDAİ arasında korelasyon bulunmadı. Sulfasalazin tedavisi alan (n=17) ve almayan (n=13) hastalar arasında oksidan/antioksidan seviyeleri açısından farklılık yoktu.

TARTIŞMA

Oksidasyon/antioksidasyon dengesinin oksidasyon yönünde bozulmasının yani oksidatif stresin RA, Behçet gibi inflamatuvar hastalıkların patogenezinde olduğu gibi AS patogenezinde de önemli rolü olduğunu gösteren deliller mevcuttur (10,11,21,22). Oksidatif stres serbest radikallerin ya oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında düşme sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu durum serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (23). İnflamasyon sırasında ortaya çıkan tümör nekroz faktör- α , interlökin 1- β gibi proinflamatuvar sitokinler nitrik oksit, malondialdehit oluşumunu, ksantin oksidaz aktivitesini indüklemekte ve serbest radikal oluşumunu bu yolla arttırmaktadırlar. Ankilozan spondilit patogenezinde oksidatif stresin rolünü araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Önceki çalışmalarda NO'in serum ve sinovyal sıvı seviyelerinin RA, osteoartrit gibi kronik inflamatuvar durumlarda arttığı bildirilmiştir (24). Ankilozan spondilit ile yapılan çalışmalarda ise bizim çalışmamızda olduğu gibi nitrik oksit seviyeleri kontrol grubundan farklılık göstermemektedir (11,25). Gaz kromatografi kullanılan bir çalışmada ise aktif spondiloartropatili hastalarda nitrik oksit seviyeleri inaktif hastalara ve kontrol grubuna göre yüksek

bulunmuştur (26). Bu çalışmalar arasındaki farklılığın nedeni çalışmaya katılan hasta sayısının az olması ya da kullanılan metodun farklı olmasından kaynaklanabilir.

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden en çok etkilenen hücre elemanları membran lipidleridir. Oksidatif atak özellikle polyanstüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile kendisini gösterir. Malondialdehit bu zincir reaksiyon sırasında bir ara ürün olarak oluşur. Bu nedenle malondialdehit düzeyi oksidatif polyanstüre yağ asitleri hasarının bir göstergesi olarak kabul edilir. Malondialdehit miktarının artması hasarı gösterir (27). Yapılan çalışmalarda bizim çalışmamızda olduğu gibi MDA seviyeleri oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun artmasına bağlı olarak RA, AS gibi inflamatuvar hastalıklarda yüksek olarak bulunmuştur (5,11). Bu sonuç hastalarda kullanılacak antioksidan ilaçların etkili olabileceğini göstermektedir.

Ksantin oksidaz pürin metabolizmasındaki son basamaklar olan hipoksantin ve ksantine, onun da ürik asite dönüşümünde görev alan enzimdir. Bu olay sırasında her iki basamakta da yan ürün olarak süperoksit molekülü ortaya çıkar. Yani ksantin oksidaz enzimidaki aktivite artışı süperoksit üretimi ve oksidatif stres ile sonuçlanır (28). İnflamatuvar ve otoimmün romatizmal hastalıklarda serbest radikal oluşumunda ksantin oksidazın da katkıda bulunduğunu gösteren bir çok çalışma mevcuttur (29-31). İnflamasyon sırasında lökositlerden salınan sitokinlerin endotelial ksantin dehidrogenazı irreversibl bir şekilde ksantin oksidaza dönüştürdüğü bununda endotelial oksijen radikallerinin salınımına yol açtığı öne sürülmüştür (32). Bizim çalışmamızda da XO seviyesi özellikle aktif hastalarda olmak üzere hasta grupta kontrol

Tablo 2 Aktif ve inaktif hastalar ile kontrol grubunun oksidan/antioksidan değerleri

	Hasta grubu(n=30)		Kontrol (n=30)
	Aktif (n=17)	İnaktif (n=13)	
MDA (μ mol/L)	1,74 (0,59- 2,47)a	1,72 (,31- 3,43)	1.36 (0,31-5,32)
XO (U/ml)	0,90 (0,03- 1,28)b	0,83 (,03- 1,42)	0.32 (0,01-0,99)
SOD (U/ml)	8,01 (2,35 - 9,94)c	9,07 (7,93- 10,06)d	4.50 (0,22-10,39)
NO (mmol/L)	33,98 (19,89- 54,24)	39,92 (18,98- 55,14)	35.71 (18,08-70-51)

Değerler ortalama (min-max) olarak verilmiştir. a p<0,001, b p<0,001, c p<0,001, aktif hastalar ile kontroller arasında d p<0,001, inaktif hastalar ile kontroller arasında

grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti.

İnsan organizmasında reaktif oksijen metabolitlerinin bilinen toksik etkilerini engellemek amacı ile çeşitli antioksidan mekanizmalar çalışır. Bunlardan en önemlisi olan superoksit dismutaz enzimi, superoksit radikallerini ortadan kaldırır. Oksijen molekülüne bir fazla elektronun eklenmesi sonucu oluşan bir reaktif oksijen metaboliti yani superoksit radikalının (O₂) ortadan kaldırılması, superoksit dismutaz enziminin katalize ettiği dismutasyon reaksiyonu ile gerçekleşir. Dismutasyon reaksiyonu sırasında, bir superoksit radikali oksijene yükseltgenirken bir başka superoksit radikali ise hidrojen peroksit (H₂O₂) indirgenir (33). RA, Behçet, AS gibi pek çok inflamatuvar hastalıkta bu enzimin aktivitesinin azaldığını, arttığını veya kontrollerle aynı seviyede kaldığını görmekteyiz (3,11,34,35). Yüksek düzeylerdeki SOD aktivitesi inflamasyonda serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmada etkili olduğunu düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da Özgöçmen ve arkadaşlarının (11) çalışmasında olduğu gibi inaktif hastalardaki SOD aktivitesi daha yüksekti. Yani hastalık aktivitesinde etkili olduğunu düşündüğümüz serbest oksijen radikallerinin yüksek seviyedeki SOD aktivitesi ile ortadan kaldırılmış olmasının hastalığın aktivitesinin azalmasında etkili olduğu düşünülebilir.

Sulfasalazin, sulfapiridine azo bağıyla bağlanmış 5-aminosalisilik asitten (5-ASA) ibaret bir bileşiktir. Bu bileşikdeki sulfapiridin taşıyıcı olup, esas etkili ve aktif kısmı 5-ASA'dır (36). 5-ASA'nın muhtemel etki mekanizmaları arasında 'natural killer' hücrelerinin, antikor sentezinin, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarının ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu ile serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi yer alır (37,38). İltihabi barsak hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda 5-ASA'nın serbest oksijen radikallerini temizlediği böylece tedaviye katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (39,40). Ankilozan spondilit çalışmalarında ise sulfasalazin kullanan hastalar hep çalışma dışı bırakılmışlardır. Biz çalışmamızda sulfasalazin kullanan hastalarla kullanmayanlar arasında MDA, NO seviyesi ve XO, SOD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamadık. Her iki grupta da hastalığı aktif olan ve olmayan hastalar vardı. Oksidan/Antioksidan değerlerinde farklılık saptanmamasının nedeni AS hastalarında sulfasalazinin etki mekanizmaları arasında serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinin yer almaması olabilir. Ancak bu sonuca varabilmek için daha çok hasta sayılı ve daha ileri değerlendirme yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak biz çalışmamızda ankilozan spondilit hastalarında oksidan/antioksidan dengesinin oksidasyon yönünde bozulmuş olduğunu saptadık. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı olmasa da aktif hastalarda inaktif olanlara göre daha yüksekti. Buna göre oksidan seviyesini azaltan ve antioksidan kapasitesini yükselten ajanlarla yapılacak efektif bir antioksidan terapi, ankilozan spondilit hastalarında bir tedavi seçeneği olabilir.

KAYNAKLAR

1. Khan MA. Ankylosing spondylitis: Clinical features of ankylosing spondylitis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, et al (eds). *Rheumatology* 3rd ed. Spain: Mosby 2003;s:1161-81.
2. Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002;16:675-90.
3. Yıldırım K, Karatay S, Güreşer G, Kızıltunç A, Uğur M, Şenel K. Antioxidant enzymes capacity in patients with rheumatoid arthritis: The relationship with disease activity score. *Romatizma* 2004;19(2):81-6.
4. Karatas F, Ozates I, Canatan H, Halifeoglu I, Karatepe M, Colakt R. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res* 2003;118:178-81.
5. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, Isikan UE. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Biochem* 2005;38:981-6.
6. Kose K, Yazici C, Cambay N, Ascioğlu O, Dogan P. Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behçet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197(1):9-16.
7. Horton JW. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology* 2003;189(1-2):75-88.
8. LeGrand A, Farmor B, Fink C, Pisetsky DS, Weinberg JB, Vail TP, et al. Interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-17 synergistically up-regulate nitric oxide and prostaglandin E2 production in explants of human osteoarthritic knee menisci. *Arthritis Rheum* 2001;44(9):2078-83.
9. Biasi D, Carletto A, Caramaschi P, Bellavite P, Andrioli G, Caraffi M, et al. Neutrophil functions, spondylarthropathies and HLA-B27: a study of 43 patients. *Clin Exp Rheumatol* 1995;13(5):623-7.
10. Karakoc M, Altındag O, Keles H, Soran N, Selek S. Serum oxidative-antioxidative status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2007 Oct;27(12):1131-4.
11. Özgöçmen S, Sogut S, Ardicoglu O, Fadilloğlu E, Pekutucu I, Akyol O. Serum nitric oxide, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2004;24(2):80-3.
12. Pullar T, Zoma A, Capell HA, Khan MF, Brown DH, Smith WE. Alteration of thiol and superoxide dismutase status in rheumatoid arthritis treated with sulphasalazine. *Br J Rheumatol* 1987;26(3):202-6.
13. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-368.
14. Özgöçmen S. *Romatolojide sınıflama kriterleri ve kısa klinik metroloji*. İstanbul: Veri Medikal Yayıncılık, 2008:87-119.
15. Hammouda A el-R, Khalil MM, Salem A. Lipid peroxidation products in pleural fluid for separation of transudates and exudates. *Clin Chem* 1995; 41: 1314-5.
16. Mueller AR, Platz KP, Langrehr JM, Hoffman RA, Nussler AK, Nalesnik M, et al. The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation* 1994;58:1309-1316.
17. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-1443.
18. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1975; 59: 245-249.
19. Sun Y, Oberley LW, Ying L: A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
20. Durak I, Yurtaslan Z, Canbolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 1993; 214:103-104.
21. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6(6):265-78.
22. Mungan AG, Can M, Acikgoz S, Esturk E, Altinyazar C. Lipid peroxidation and homocysteine levels in Behçet's disease. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(9):1115-8.
23. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turk J Biochem* 2006; 31 (2); 51-56.
24. Jang D, Murrell GA. Nitric oxide in arthritis. *Free Radic Biol Med* 1998 Jun;24(9):1511-9.

25. Kozaci LD, Sari I, Alacacioglu A, Akar S, Akkoc N. Evaluation of inflammation and oxidative stress in ankylosing spondylitis: a role for macrophage migration inhibitory factor. *Mod Rheumatol* 2009 Sep 29.
26. Stichtenoth DO, Wollenhaupt J, Anderson D, Zeidler H, Frölich JC. Elevated serum nitrate concentrations in active spondyloarthropathies. *Br J Rheumatol* 1995 Jul;34(7):616-9.
27. Janero DR, Burghardt B. Cardiac membrane vitamin E and malondialdehyde levels in heart muscle of normotensive and spontaneously-hypertensive rats. *Lipids* 1989 Jan;24(1):33-8.
28. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985; 312:159-63.
29. Miesel R, Zuber M. Elevated levels of xanthine oxidase in serum of patients with inflammatory and autoimmune rheumatic diseases. *Inflammation* 1993;17(5):551-61.
30. Cimen MY, Cimen OB, Kaçmaz M, Oztürk HS, Yorgancıoğlu R, Durak I. Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2000;19(4):275-7.
31. Başkol G, Karaküçük S, Öner A, Başkol M, Koçer D, Günay N. Oksidan/Antioksidan Parametrelerin Behçet Hastalığı ile ilişkisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2007;29(5):363-8.
32. Karabulut AB, Kafkaslı A, Burak F, Gozukara E. Maternal and fetal plasma adenosine deaminase, xanthine oxidase and malondialdehyde levels in pre-eclampsia. *Cell Biochem Funct* 2005; 23: 279-83.
33. Kavas GÖ. Reaktif Oksijen Metabolitlerine Fizyopatolojik Yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası* 1994;47:579-92.
34. Seven A, Güzel S, Aslan M, Hamuryudan V. Lipid, protein, DNA oxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 2008;41(7-8):538-43.
35. Buldanlioglu S, Turkmen S, Ayabakan HB, Yenice N, Vardar M, Dogan S, et al. Nitric oxide, lipid peroxidation and antioxidant defence system in patients with active or inactive Behçet's disease. *Br J Dermatol* 2005;153(3):526-30.
36. Azad Khan AK, Piris J, Truelove SC. An experiment to determine the active therapeutic moiety of sulphasalazine. *Lancet* 1977; 2:892
37. MacDermott RP. Progress in understanding the mechanisms of action of 5-aminosalicylic acid. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3343.
38. Gionchetti P, Guarnieri C, Campieri M, Belluzzi A, Brignola C, Iannone P, et al. Scavenger effect of sulfasalazine, 5-aminosalicylic acid, and olsalazine on superoxide radical generation. *Dig Dis Sci* 1991;36(2):174-8.
39. Beno I, Staruchová M, Volkovová K, Mekinová D, Bobek P, Jurcovicová M. Activity of the antioxidant system in patients with idiopathic proctocolitis and the effect of 5-aminosalicylic acid (Salofalk). *Bratisl Lek Listy* 1994;95(3):99-102.
40. Reifen R, Nissenkorn A, Matas Z, Bujanover Y. 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J Gastroenterol* 2004;39(6):514-9.