

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ROMATOİD ARTRİTTE *NEUROSERPİN*'İN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevil ARABACI TAMER

Enstitü Anabilim Dalı : Fizyoloji

Enstitü Bilim Dalı : Tıbbi Nörofizyoloji

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gönül GÜROL ÇİFTÇİ

HAZİRAN-2015

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ROMATOİD ARTRİTTE *NEUROSERPİN*'İN ROLÜ




YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevil ARABACI TAMER

Enstitü Anabilim Dalı : Fizyoloji


Enstitü Bilim Dalı : Tıbbi Nörofizyoloji

“Bu tez 17/06/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof. Dr. İbrahim TEKEOĞLU	Basarılı	
Prof. Dr. Nurbay ATEŞ	Basarılı	
Yrd. Doç. Dr. Gönül GÜROL ÇİFTÇİ	Basarılı	

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 30/09/2014 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamada etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



17/06/2015

Sevil ARABACI TAMER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, desteğini, emeğini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Gönül GÜROL ÇİFTCİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tez çalışmamda değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. İbrahim TEKEOğLU ve Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTCİ hocalarıma teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca benden sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim aileme ve beni bu yolda hiç yalnız bırakmayan eşim Ömer TAMER'e sevgi dolu teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2014-80-01-002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİLLER	viii
TABLolar	ix
EKLER	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ROMATOİD ARTRİT	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Etiyoloji	3
2.1.4. Patogenez	3
2.1.5. Klinik Özellikler	5
2.1.5.1. Eklem bulguları	5
2.1.5.2. Eklem dışı bulguları	6
2.1.6. Tanı	6
2.1.6.1. Laboratuvar bulguları	7
2.1.7. Tedavi	8
2.2. ROMATOİD ARTRİT VE PLAZMİNOJEN İLİŞKİSİ	9
2.2.1. Plazminojen	9
2.2.2. Plazminojen Aktivatörleri.....	9
2.2.2.1. Doku plazminojen aktivatörü.....	9
2.2.2.2. Ürokinaz tipi plazminojen aktivatör	9
2.2.3. Doku Plazminojen Aktivatörü İnhibitörleri.....	10
2.2.3.1. Plazminojen aktivatör inhibitör-1.....	10
2.2.3.2. Neuroserpin	11

2.3. ROMATOİD ARTRİT VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN İLİŞKİSİ.....	12
2.3.1. Matriks Metalloproteinazlar	12
2.3.2. Matriks Metalloproteinaz-9 (Gelatinaz B).....	12
2.4. ROMATOİD ARTRİT VE SIKI BAĞLANTI KOMPLEKSİ (TJ: TIGHT JUNCTION) İLİŞKİSİ	13
2.4.1. Sıkı Bağlantı Kompleksi Ailesi	13
2.4.2. <i>Claudin</i> Protein Ailesi	14
2.4.2.1. <i>Claudin-5</i>	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI	15
3.1.1. Hasta Grupları.....	15
3.2. SAĞLIK DEĞERLENDİRME ANKETİ	17
3.3. C-REAKTİF PROTEİN	17
3.4. ERİTROSİT SEDİMENTASYON HIZI.....	17
3.5. ROMATOİD FAKTÖR	18
3.6. ANTİ-SIKLIK SİTRÜLİNLENMİŞ PEPTİD	18
3.7. ELİSA ÇALIŞMALARI	18
3.7.1. <i>Claudin-5</i>	18
3.7.2. Matriks Metalloproteinaz-9	19
3.7.3. <i>Neuroserpin</i>	20
3.8. DIŞLAMA KRİTERLERİ	21
3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	21
3.10. ETİK ONAY	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. HASTA TAKİBİ VE DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER.....	22
4.2. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ C-REAKTİF PROTEİN (CRP) ANALİZİ.....	23
4.3. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ERİTROSİT SEDİMENTASYON HIZI (ESH) ANALİZİ.....	24
4.4. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ROMATOİD FAKTÖR (RF) IGM ANALİZİ.....	25

4.5.ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ANTİ-SİKLİK SİTRÜLİNLENMİŞ PEPTİD (ANTİ-CCP) ANALİZİ.....	26
4.6. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ CLAUDİN-5 ANALİZİ.....	27
4.7. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ MMP-9 ANALİZİ	28
4.8. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ NEUROSERPİN ANALİZİ	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
6. ÖZET	36
KAYNAKLAR	

KISALTMA VE SİMGELER

ACPA: Anti- sitrülinlenmiş protein antikorları

ACR/EULAR: American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism

ACR: Amerikan Romatoloji Cemiyeti

Anti-CCP: Anti-siklik sitrülinlenmiş peptid

CIA: Kollajen ile oluşturulan artrit

Cld: Claudin

CRP: C-reaktif protein

DAS: Hastalık aktivite indeksi

DMARD: Hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar

ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı

ESM: Ekstrasellüler matriks

GSD: Genel sağlık değerlendirmesi

H.H.G: Hastalık Şiddeti hafif

HAQ: Sağlık değerlendirme anketi

HES: Hassas eklem sayısı

HLA: İnsan lökosit antijeni

HRP Horseradish peroxidase

IFN: İnterferon

Ig: İmmünglobulin

IL: İnterlökin

IQR: Interquartile range (Çeyrekler arasındaki fark)

JAM: Junctional adhesion molecules

KBB: Kan beyin bariyeri

MKF: Metakarpofalangiyal

MMP: Matriks metalloproteinaz

MTF: Metatarsofalangiyal

NS: Neuroserpin

NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar

O.H.G: Hastalık şiddeti orta
PAI: Plazminojen aktivatör inhibitör
PIF: Proksimal interfalangiyal
R.G: Hastalık remisyonda
R.A: Romatoid artrit
RF: Romatoid faktör
S.B: Sağlıklı bireyler
sICAM-1: Çözünebilir hücrelerarası adezyon molekülü 1
su-PAR: Çözünebilir ürokinaz plasminojen aktivatörler reseptörünün
sVCAM: Çözünebilir vasküler hücre adezyon molekülü
ŞES: Şiş eklem sayısı
TGF- β : Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TJ: Sıkı bağlantı kompleksi
TMB: Tetramethylbenzidine
TNF: Tümör nekroz faktör
t-PA: Doku plazminojen aktivatörü
u-PA: Ürokinaz plazminojen aktivatörü
u-PAR: Ürokinaz plasminojen aktivatör reseptörü
Y.H.G: Hastalık şiddeti yüksek
ZO: Zonula occludens

ŞEKİLLER

Şekil 1. Sinovyumdaki sitokinlerin sistemik ve lokal inflamasyondaki etkileri.....	4
Şekil 2. Sitokinlerin ve MMP'lerin kemik ve eklem erozyonundaki etkileri	5
Şekil 3. DAS-28 hesaplanmasında değerlendirilen eklemler.	16
Şekil 4. DAS-28 gruplandırmasına göre CRP değişimleri	23
Şekil 5. DAS-28 gruplandırmasına göre ESH değişimleri	24
Şekil 6. DAS-28 gruplandırmasına göre RF IgM değişimleri	25
Şekil 7. DAS-28 gruplandırmasına göre anti-CCP değişimleri	26
Şekil 8. DAS-28 gruplandırmasına göre Cld-5 değişimleri.....	27
Şekil 9. DAS-28 gruplandırmasına göre MMP-9 değişimleri	28
Şekil 10. DAS-28 gruplandırmasına göre N.S değişimleri.....	29

TABLULAR

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri	22
Tablo 2. CRP'nin gruplar arasındaki betimsel analizi	23
Tablo 3. ESH'nin gruplar arasındaki betimsel analizi.....	24
Tablo 4. RFIgM'nin gruplar arasındaki betimsel analizi	25
Tablo 5. Anti-CCP'nin gruplar arasındaki betimsel analizi	26
Tablo 6. <i>Claudin-5</i> 'in gruplar arasındaki betimsel analizi.....	27
Tablo 7. MMP-9'un gruplar arasındaki betimsel analizi	28
Tablo 8. <i>Neuroserpin</i> 'in gruplar arasındaki betimsel analizi	29

EKLER

Ek 1- Etik Kurul Onay Formu.....	64
-----------------------------------------	----

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya popülasyonunun %1'ini etkilediği bilinen otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit (R.A)'nın geri dönüşümsüz olarak kıkırdak/kemik yıkımı, sinovyal hiperplazi, eklem iltahabı gibi klinik bulgular ile hastaların yaşam kalitesini azalttığı bilinmektedir. Eklem bulgularının yanı sıra eklem dışı tutulumunun merkezi sinir sistemi, göz, kalp, akciğer gibi organları da etkilediği belirtilmektedir. Eklem dışı tutulumu olan R.A hastalarındaki mortalite oranının, eklem dışı tutulumu olmayan R.A hastalarına göre daha yüksek olması dikkat çekici bir bulgudur.

R.A hastalığının sebebi günümüzde henüz tam olarak bilinmemektedir. Romatizmal hastalarda tanının tespit edilmesine aracılık eden RF, ACPA, Anti-CCP gibi otoantikörler R.A hastalığının tanısında da kullanılmaktadır. Ancak patogeneze inflamatuvar yolakların aracılık ettiği düşünülmektedir. Birçok klinik ve deneysel çalışmada proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin etkisi gösterilmiştir. Buna ek olarak günümüzde R.A hastalarının tedavisinde anti-TNF- α gibi sitokinlerin kullanıldığı bilinmektedir.

R.A hastalarındaki eklem patogenezinde plazminojen sisteminin rol oynadığına dair birçok kanıt literatürde bulunmaktadır. Özellikle plazminojen aktivatörlerinden t-PA'nın plazminojeni plazmine çevirme olarak bilinen klasik görevinin yanı sıra mikroglyal aktivasyon ve matriks regülasyonuna da katılması dikkat çekici bir veridir. Plazminojen aktivatörlerinin yanı sıra PAI-1, PAI-2 ve N.S gibi plazminojen aktivatör inhibitörlerinin de inflamatuvar yanıtlarda etkin olabileceği gösterilmiştir. Doğal doku plazminojen aktivatör inhibitörü olan ve bugüne kadar R.A hastalığındaki rolü henüz araştırılmamış olan N.S'nin mikroglyal aktivasyon, inflamasyon ve KBB'ye olan etkileri birçok patolojik

süreçte çalışılmıştır. Literatürde yapılan çalışmaların bulguları neticesinde ESM degradasyonunun KBB geçirgenliğini arttırdığı ve MMP'lerin R.A patogenezinde etkili olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte yeni yapılan çalışmalarda MMP'lerin degradasyonunun u-PA ve t-PA serin proteazları tarafından düzenlenen plazminojenin plazmine dönüşümü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle son çalışmalarda MMP-9'un R.A patogenezinde etkili olduğu bildirilmektedir.

KBB'nin yapısal bileşenleri incelendiğinde hücrelerin temas noktalarında yer alan *tight junction* proteinlerinin R.A hastalığının prognozunda biyolojik belirteç olabileceği literatürde yer almaktadır.

Bu çalışmada DAS-28 skorlamasına göre R.A hastalarının hastalık aktivitesinin sınıflandırılması/değerlendirilmesi ve R.A'daki hastalık aktivitesi ile olası ilişkisi olduğu hipotezi kurulan N.S düzeylerinin saptanmasının yanı sıra NS'nin rutin olarak kullanılan diğer belirteçler ile olan ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ROMATOİD ARTRİT

2.1.1. Tanım

Romatoid artrit (R.A), inflamatuvar hücre infiltrasyonu, geri dönüşümsüz kıkırdak/kemik yıkımı, eklem dokusunda sinovyal hiperplazi, sinovyum proliferasyonu ve eklem iltihabı ile karakterize olan ve yaşam kalitesini azaltan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (Raghu et al 2014, Shinde et al 2014).

2.1.2. Epidemiyoloji

R.A, dünya çapında popülasyonun %1'ini etkileyen otoimmün olan bir hastalıktır (Gibofsky 2014). R.A, kadınlarda erkeklere göre yaklaşık iki-üç kez daha fazla görülmektedir (Chandrasekar et al 2014).

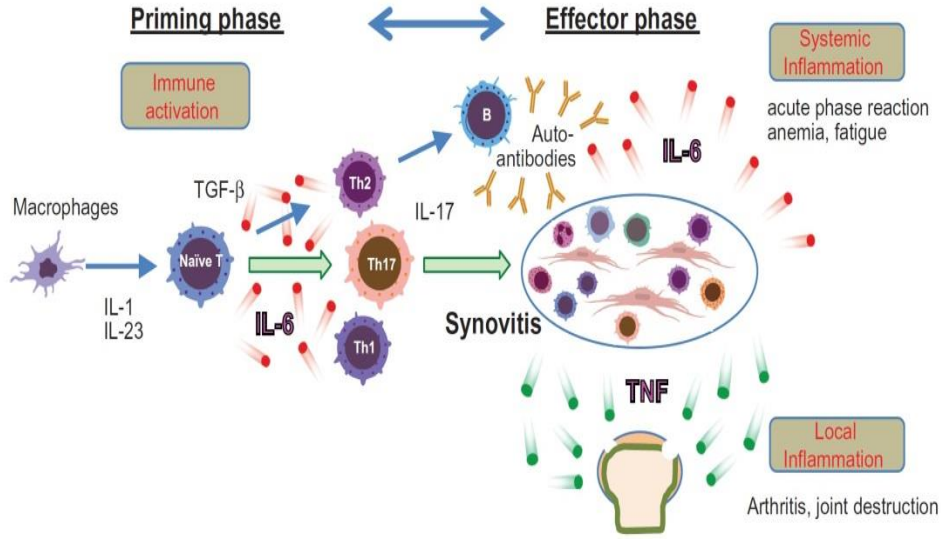
2.1.3. Etiyoloji

R.A'nın nedeni henüz tam olarak bilinmemesine rağmen, hastalığın başlangıcının genetik ve çevresel faktörlerin etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Başlıca risk faktörleri genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, sigara, enfeksiyon ajanları, hormonal değişiklikler, beslenme, sosyoekonomik ve etnik faktörlerdir. (Alamanos and Drosos 2005, Gibofsky 2012). T hücrelerinde antijen reseptörünün ekspresyonu ve immunoglobulinlerin (Ig) hem hafif hem de ağır zincirlerini kontrol eden genler R.A'da önemli rol oynamaktadır. Ayrıca tümör nekroz faktör α (TNF- α) ve interlökin (IL)-10 genlerindeki polimorfizmlerin ve kromozom 3 (3q13)'deki bir bölgenin de R.A ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Gümüşiş ve Doğanavşargil 1999).

2.1.4. Patogenez

R.A'nın sebebi henüz tam olarak bilinmese de patogenezinde çeşitli immün düzenleyicilerin (sitokinler ve efektör hücreler) ve bunların yolaklarının rol oynadığı

düşünülmektedir (Choy 2012). Özellikle patogeneizde rol oynayan inflamatuvar sitokinlerin sinovyal kaynaklı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Eklem tutulumunun sıkça rastlandığı R.A hastalarının sinovyumlarındaki TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretiminden sinovyal makrofajların ve tip B sinovyositlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Şekil 1). Sinovyumda proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile giden süreçte IL-4, IL-10, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β , TNF - α reseptörleri, IL-1 resöptör antagonisti ve IL-18 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin de üretildiği bilinmektedir (Arend 2001).

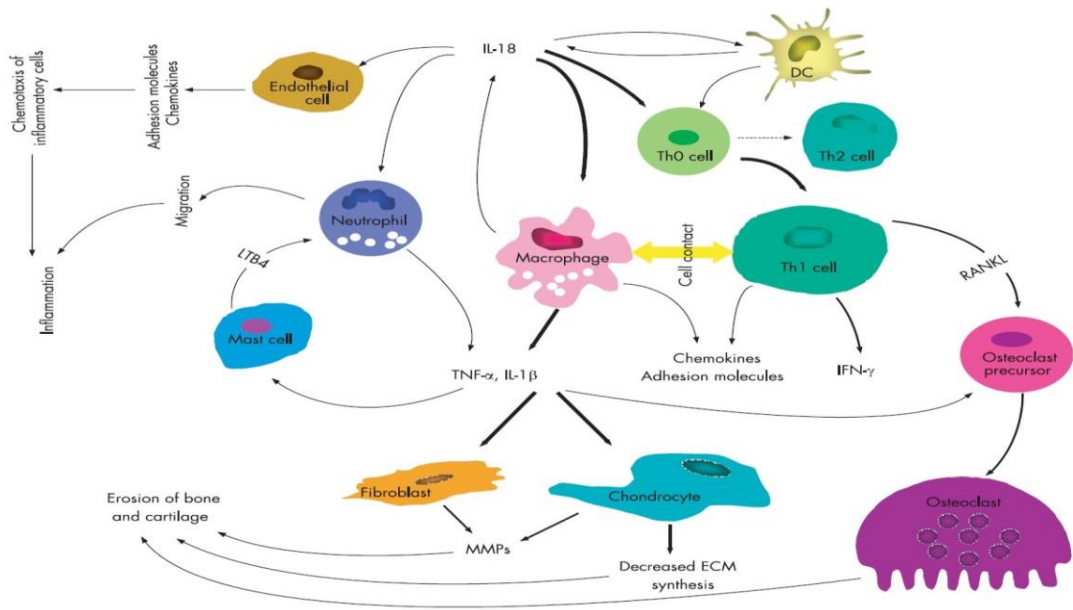


Şekil 1. Sinovyumdaki sitokinlerin sistemik ve lokal inflamasyondaki etkileri (Ogata, Hirano, Hishitani and Tanaka 2012)

R.A patogenezi incelendiğinde hastalığın başlangıç evrelerinde immün sisteme ait hücreler aktif hale gelerek, bir otoimmünite süreci başlatmakta ve bu hücrelerin kendi vücutlarına karşı savunmaya geçmeleriyle hastalık ileri bir safhaya taşınmaktadır (Tracey, Klareskog, Sasso, Salfeld and Tak 2008). Bu süreç, yukarıda da bahsedilen çeşitli sitokinlerin ve diğer inflamasyon ajanlarının uyarılması ile gerçekleşmektedir. Sitokinler yıkıcı etkilerini, bağışıklık sistemi hücreleri ile bağ dokusu hücrelerini teşvik ederek, vücudun kendine ait dokuları ile karşı karşıya gelmelerini sağlayarak göstermektedir. Sitokinlerin etkisi ile sinovyalden yumru şeklinde bir doku (pannus) oluşmaktadır. İnflamatuvar reaksiyon oluşumuyla da

sinovyum kalınlaşmakta, kıkırdak ve altta yatan kemik parçalanmaya başlamaktadır (Schett and Gravalles 2012).

Başlangıç evrelerinde görülen immün cevap aktivasyonu otolog antijenlerin oluşmasına ve eksojen materyaller tarafından dentritik hücrelerin aktive olmasına neden olmaktadır. B hücreleri; lokal olarak anti- sitrülünlenmiş protein antikorları (ACPA) gibi otoantikorlar ve sitokinleri üretmektedir. T hücreleri ise diğer efektör hücrelerin aktivasyonunu sağlayarak eklem hasarında rol oynamaktadır (Şekil 2). Ayrıca makrofajlar ve sinovyal sıvıda yoğun olarak bulunan nötrofiller IL-6, IL-1 ve TNF- α gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımına katkı sağlamaktadır (Dai et al 2007, Li et al 2013).



Şekil 2. Sitokinlerin ve MMP'lerin kemik ve eklem erozyonundaki etkileri (Dai et al 2007)

2.1.5. Klinik Özellikler

2.1.5.1. Eklem bulguları

R.A'da eklem tutulumu poliartiküler, simetrik ve deformasyon yapıcıdır. Tutulumun gerçekleştiği eklemlerde ağrı, sabah tutukluğu, şişlik, sıcaklık artışı ve fonksiyon kaybı görülmektedir. Gerek başlangıç döneminde gerekse hastalığın seyri boyunca

en sık tutulan eklemler arasında proksimal interfalangiyal (PIF) eklemler, metakarpofalangiyal (MKF) eklemler, el bilekleri, dirsekler, ayak bilekleri, metatarsofalangiyal (MTF) eklemler, dizler, omuzlar ve kalçalar yer almaktadır (Kadayıfçı ve Karaaslan 1998).

2.1.5.2. Eklem dışı bulguları

Eklem dışı bulgularda sıklıkla romatoid faktör (RF) pozitifdir. Ancak bu değer daha uzun hastalık sürecine sahip olan hastalarda görülmektedir. RA hastalarının yaklaşık %40'ında hayatlarının bir döneminde eklem dışı tutulum bulgusu bulunmaktadır. Hastaların bir kısmında eklem dışı tutulum hastalığın ilk bulgusu olabilir. Göz, kalp, akciğer tutulumu, nörolojik, renal ve hepatik tutulumda R.A'lı hastalarda oluşabilmektedir. Eklem dışı tutulumu olmayan R.A hastalarında yaşam süresi genel popülasyonla benzerlik gösterirken, eklem dışı tutulum olanlarda mortalite daha yüksektir (Turesson et al 2002, Hatemi ve Yazıcı 2006).

R.A'da inflamasyona bağlı olarak kemik rezorpsiyonu da artmaktadır. Buna bağlı olarak erozyonlar, periartiküler osteopeni ve yaygın olarak osteoporoz gelişebilmektedir. R.A hastalarında sık olarak kullanılan steroidler de osteoporoz gelişimine katkı sağlamaktadır (Hatemi ve Yazıcı 2006).

2.1.6. Tanı

R.A tanısının en önemli semptomları arasında eklemlerde ağrı, şişlik ve sertlik yer almaktadır. Sistemik bulguları arasında çoğunlukla yorgunluk, düşük dereceli ateş ve kilo kaybı bulunmaktadır (Wasserman 2011, Schneider and Krüger 2013).

Amerikan Romatoloji Cemiyeti (ACR) R.A tanısını kolaylaştırmak ve bir standard sağlamak için; eklem tutulumu, seroloji (RF ve Anti-CCP), akut faz reaktanlarının düzeyleri ve semptomların süresini içeren dört temel parametre ile sınıflama kriterlerini belirlemiştir. ACR ilk olarak 1958 yılında R.A tanı kriterlerini geliştirmiş, 2010 yılında ise bu kriterleri yenilemiştir (Aletaha et al 2010, Kourilovitch et al 2014). Bu tanı kriterlerine göre; R.A teşhisinde hastanın en az bir ekleminde sinovit varlığı, sinoviti daha iyi açıklayan alternatif bir tanı olmaması ve tutulan eklem sayısı

ve yeri (puan aralığı 0-5), serolojik anormallik (puan aralığı 0-3), artmış akut faz yanıtı (puan aralığı 0-1) ve semptom süresinin (2 düzeyleri; aralığı 0-1) değerlendirildiği skorlamanın toplamda 6 ya da daha yüksek olması gerekmektedir (Aletaha et al 2010). Ayrıca tanının tespit edilmesinde otoimmün hastalıklarda saptanabilen otoantikörler kullanılmaktadır.

2.1.6.1. Laboratuvar bulguları

Romatoid faktör

Romatoid faktör (RF), IgG antikorlarının Fc parçasına karşı gelişen ve 1930'ların sonunda tespit edilmiş olan bir otoantikördür (Burska et al 2014). RF; IgM, G, A, E cinsinden olup R.A'da %90 IgM tipindedir. RF, R.A teşhisinde sıklıkla kullanılmaktadır ve hastaların %50-80'inde pozitif bulunmaktadır. Ancak RF değeri yaşla birlikte artmaktadır. Ayrıca diğer romatolojik ve enfeksiyon hastalıklarında da görüldüğünden dolayı, R.A için özgüllüğü düşüktür. Yüksek titrede pozitifliği ise hastalık için kötü prognoza işaretler. RF testi ilk 3 ayda hastaların 1/3'ünde, ilk 6 ayda hastaların yarısında pozitifdir (Erol 2008, Tasliyurt et al 2013). Dolayısıyla bir tarama testi olarak kullanışlı değildir. Klinik olarak şüphelenilen bireylerde tanıyı doğrulamak için RF değerine bakılmaktadır. Bu sayede yüksek değerlere sahip, eklem dışı bulguları olan kişilerde hastalığın şiddeti ve ilerlemesine yönelik eğilim olduğu ileri sürülmektedir (Lipsky 2004).

Anti- sitrülünlenmiş protein antikorları

Anti- sitrülünlenmiş protein antikorları (ACPA), R.A için çok spesifik olmakla birlikte hastalığın teşhis ve sınıflandırılmasında oldukça önemlidir. ACPA %95 özgüllük ve yaklaşık %40 hassasiyet ile R.A şüphesi taşıyan erken inflamatuvar artrit hastalarında diagnostik belirteç olarak kullanılmaktadır (Goëb et al 2009). Hastalığın klinik başlangıcından 10 yıl öncesinden belirlenebilmesine olanak sağlamasının yanısıra gelişeceğine dair öngörü sahibi olmamızı da sağlamaktadır. ACPA varlığı ACPA pozitif; yokluğu ACPA negatif olarak ifade edilmektedir. ACPA pozitif R.A hastaları, farklı risk faktörlerine sahip olmalarından dolayı daha kötü prognoza sahiptir. Bu risk faktörleri arasında genetik (bazı HLA-DR4 molekülleri ve ACPA ile

ilişkili olan PTPN22 risk alelleri) ve çevresel etkileşimler yer almaktadır (Kocijan et al 2013, Seegobin et al 2014).

Anti sitrülünize peptid antikorları

Anti sitrülünize peptid antikorları (anti-CCP) R.A tanısı için spesifik tanı belirteçidir ve duyarlılığı %70'den daha fazladır. Ayrıca hastalığın erken safhalarında belirlenebilmektedir. Hastalığın eroziv ve non-eroziv ilerleyişini öngörmektedir. Bu yüzden anti-CCP R.A hastalarının optimal tedavisi için kullanışlı bir testtir. Anti-CCP pozitifliği, ACR 2010 yılındaki yeni RA tanı kriterlerinde yer almaktadır (van Venrooij et al 2008, Aletaha et al 2010, Infantino et al 2014).

Anti-CCP antikorları, R.A'da RF ile birlikte bakıldığında prognoz takibi açısından çok daha etkili olabilmektedir. Anti-CCP pozitif olan R.A'lı olgularda, radyolojik olarak eklem hasarı negatif olanlara göre daha belirgindir. Bu da, anti-CCP antikorlarının prognoz açısından önemli olduğunu göstermektedir. Bu antikorların belirli aralıklarla tayini klinik takipte oldukça faydalıdır (Yanık ve Külcü, 2008).

2.1.7. Tedavi

R.A tedavisinin amaçları arasında hastanın ağrı ve inflamasyonunun giderilerek deformitelerinin önlenmesi, hastanın fonksiyonel durumunun korunması, uzun dönem komplikasyonların önlenmesi ve ilaç yan etkilerinin en aza indirilmesi yer almaktadır. Bu amaçlara ulaşabilmek adına, R.A tedavisinde birçok yöntemin birlikte kullanılması gerekmektedir (Kadayıfçı ve Karaaslan, 1998). R.A tedavisinde kullanılan ilaçlar; nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), kortikosteroidler, hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar (DMARD) ve biyolojik ajanlardan oluşmaktadır. Ağırlıklı olarak tedavi geleneksel DMARD kombinasyonunun takip ettiği metotreksat ve glukokortikoidlerin kombinasyonu ile başlamakta ve başarısız olunması halinde bir biyolojik DMARD eklenmesi ile devam etmektedir. Sentetik DMARD ve biyolojik DMARD kombinasyonlarının kullanımı tedaviye yanıt alınmadığı durumlarda tercih edilmektedir (Krüger 2014).

2.2. ROMATOİD ARTRİT VE PLAZMİNOJEN İLİŞKİSİ

2.2.1. Plazminojen

Plazminojen, ürokinaz plazminojen aktivatörü (u-PA) veya doku plazminojen aktivatörü (t-PA) tarafından aktif formu olan plazmine dönüştürülen bir proenzimdir. Plazmin R.A hastalarında hastalığın aktivasyon aşamasında bazı otoimmün inflamatuvar kaskadların indüksiyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (Li, Guo, Holmdahl, and Ny 2005). Klinik ve deneysel kanıtlar plazminojen sisteminin osteoartrit ve romatoid artritteki eklem patogenezine katkı sağladığını ve bu sistemin R.A gelişimi boyunca hücre dışı matriksin parçalanmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Saxne et al 1993, Belcher et al 1996, Busso et al 1997). R.A hastalarının sinovyal sıvısındaki u-PA ve PAI- 1'nin antijenik değerleri plazmaları ile ya da normal eklem sinovyal sıvısıyla karşılaştırıldığında artmış olarak bulunmuştur (Busso et al 1997).

2.2.2. Plazminojen Aktivatörleri

2.2.2.1. Doku plazminojen aktivatörü

Doku plazminojen aktivatörü, damar içi fibrin degradasyonunu düzenleyen, fibrine karşı yüksek bir afiniteye sahip olan bir glikoproteindir (Bu et al 1992, Siao and Tsirka 2002, Vivien et al 2011, Chia et al 2003).

Serin proteaz olan t-PA'nın en bilindik görevi plazminojeni biyolojik olarak aktif olan plazmin haline dönüştürmektir. Bunun yanı sıra mikroglial aktivasyon, matriks regülasyonu gibi birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda da rol oynamaktadır (Pineda et al 2012). Cook ve ark (2002), kollojen ile oluşturulan artrit modelinde t-PA'nın koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Dimitroulas ve arkadaşları (2013) R.A hastalarındaki plazma t-PA seviyelerini değerlendirdikleri çalışmalarında kontrol grubuna göre hastalarda t-PA'nın arttığını belirlemişlerdir.

2.2.2.2. Ürokinaz tipi plazminojen aktivatör

u-PA fibrinolitik sistemin aktivatörü olarak tanımlanmış bir serin proteazdır (Vassalli, Baccino and Belin 1985). Hücre göçü, yara iyileşmesi ve doku

biçimlendirilmesi gibi birçok fiziksel ve patolojik durumda hücrel proteolizde yer almaktadır (Ossowski 1988). Belirli bir hücre yüzey reseptörüne (u-PAR) sahiptir. u-PA'nın reseptörüne bağlanması, enzimatik aktivitesinde artışa, hücre yüzeyine bağlı plazminojenin aktif plazmine dönüşmesine ve fibronektin, laminin ve kollajen gibi hücre dışı bileşenlerin degradasyonuna sebep olmaktadır (Miyake et al 1999). u-PA aktivitesi PA-I ve PA-II tarafından inhibe edilebilmektedir. Ayrıca plazminojen aktivasyon sistemi olan u-PA'nın bileşenlerinin, proteolitik ve nonproteolitik mekanizmalar aracılığıyla hücre adhezyonu ve göçü ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Foekens et al 2000).

R.A çalışmalarına bakıldığında u-PA seviyesinde önemli ölçüde artış belirlenmiştir (Kim, Lee, Choi, Yoo and Yang 2012). Plazma su-PAR konsantrasyonunun ise R.A hastalarında arttığı ve DAS-28 skorlamasına göre remisyonda olan hastalarda inflamatuvar aktivitenin tanımlanmasında oldukça etkili olduğu ifade edilmektedir (Slot et al 1999, Toldi et al 2013).

2.2.3. Doku Plazminojen Aktivatörü İnhibitörleri

PAI-1, PAI-2, PAI-3, nekstin ve N.S proteini olmak üzere ürokinaz ve doku plazminojen aktivatör inhibitör proteini bulunmaktadır. Bu proteinlerin hepsi aktivasyon düzeyinde proteolize aracılık eden regülatör proteinlerdir (Belcher et al 1996, Cheret et al 2003, Taneda et al 2008).

2.2.3.1. Plazminojen aktivatör inhibitör-1

PAI-1, proteaz inhibitörlerinden serpin süper ailesinin bir üyesidir. Sistein rezidüsü bulundurduğundan dolayı disülfid bağları yoktur. Sistein rezidülerinin olmaması aktif PAI-1' in biyolojik olarak stabil olmamasına neden olur. Buna karşılık metioninden zengindir. Dolayısıyla oksidan ajanlara duyarlıdır ve bu ajanlarla geri dönüşümsüz olarak inaktive olmaktadır (Van Meijer and Pannekoek 1995, Francis et al 2002). PAI-1 trombositler, damar endotel ve düz kas hücrelerinde bulunmaktadır. Bu da PAI-1'nin vasküler yaralanma ve trombus oluşumu alanlarında fibrinolizisin önemli bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir (Fay, Parker, Condrey and Shapiro 1997).

PAI-1, plazminojeni plasmine dönüştüren t-PA ve u-PA'nın inhibitörü olan güçlü bir proteolitik enzimdir. Bu nedenle, PAI-1 plazmin güdümlü proteolizis birincil ve negatif regülatörüdür. Ayrıca PAI-1; fibroz, romatoid artrit, ateroskleroz, tümör anjiyogenez ve bakteriyel enfeksiyonlar da dahil olmak üzere birçok sürece aracılık etmektedir. PAI-1 seviyeleri hastalıkların akut fazlarında hızla birkaç kat artmaktadır. Bu nedenle sağlıklı ve çeşitli hastalıklara sahip insanlarda hem plazma PAI-1 seviyeleri hem de aktivitesi büyük oranda değişiklik göstermektedir. İnflamatuar cevapta, akut akciğer hasarında, sepsiste, endotoksemilerde, meningokoksik sepsiste ve lökopeni durumlarında PAI-1 seviyelerinde artış görülmektedir (Hermans and Jan 2005). Makrilakis ve arkadaşları (2015), 6 aylık anti-IL-6 reseptör antikor (tokilizumab) tedavisinin uygulandığı RA hastalarında adiposit ve lipid seviyelerinde artış, serum PAI-1 ve kimerin seviyelerinde azalma saptamıştır. Bu değişikliklere göre, bu antikorun antiinflamatuvar ve antitrombotik /fibrinolitik aktivite gösterdiği ifade edilmiştir (Busso et al 1997).

2.2.3.2. Neuroserpin

Doğal doku plasminojen aktivatör inhibitörü olan N.S, serin proteaz inhibitörlerinin (serpin ailesinin) bir üyesidir (Schrimpf et al 1997, Belorgey et al 2011). Yetişkin sinir sisteminde çoğunlukla nöronlarda ancak düşük seviyede omurilik, kalp, testis, akciğer ve pankreasda ekspresyon göstermektedir. Nöronal büyüme ve plastisitenin düzenlenmesinde, öğrenme, bellek ve davranışta rol oynamaktadır (Galliciotti and Sonderegger 2006, Miranda and Lomas 2006, Sarkar et al 2011, Tsang et al 2014). Ayrıca t-PA ile kompleks oluşumu sayesinde; N.S mikroglial aktivasyonu, inflamasyonu ve kan beyin bariyerini (KBB) sınırlamakta ve böylece nörokoruyucu etki göstermektedir (Rodríguez-González et al 2011). Ayrıca N.S antiinflamatuvar aktivite göstermektedir (Munuswamy-Ramanujam et al 2010). Gelderblom ve arkadaşları (2013) N.S -/- fokal iskemik inme fare modelinde iskemik alanda fibrinolitik aktivitenin arttığını, artan enfarkt boyutunun proinflamatuvar migroglial aktivasyon ile paralellik gösterdiğini belirlemişlerdir. Omurilik sıkışmasında ise, t-PA ve mikroglial aktivasyon ile birlikte N.S'nin hasarlı bölgede artış göstererek nörokoruyucu etki gösterdiği gösterilmiştir (Wan et al 2012).

2.3. ROMATOİD ARTRİT VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN İLİŞKİSİ

2.3.1. Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMPs) KBB geçirgenliğini arttıran ekstraselüler matriks (ESM) degradasyonunu katalizleyen endopeptidaz ailesi üyeleridir (Verma et al 2011). Lökositler, keratinositler, trombositler, fibroblastlar, makrofajlar, kondrositler, düz kas hücreleri, trofoblastlar, osteoblastlar gibi epitelyal ve mezenkimal kökenli hücreler tarafından sentezlenirler (Soydinç ve ark 2006). Doku yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli bir rol oynadıkları gibi tümör hücresi invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar (Aksun, Özmen ve Bayındır 2001). Nöbet, embriyogenezis, ovülasyon, artrit ve inflamasyon gibi durumlarda, MMPs üretiminin arttığı da görülmektedir (Adibhatla and Hatcher 2008, Lakhan et al 2013, Sapna et al 2014).

Son çalışmalarda MMP'lerin aynı zamanda R.A'nın patogenezinde önemli rollerinin olduğu gösterilmiştir. R.A'da fibroblast benzeri sinoviyositlerde esas olarak üretilen MMP'ler, hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesine ve onarılamaz proteolitik parçalanmasına katkı sağlayan proteazlardır. Aktif olmayan bir pro-MMP aktivasyonunda, u-PA ve t-PA serin proteinazları tarafından düzenlenen plazminojen-plazmin dizisinin de dahil olduğu birçok düzenleyici mekanizmada rol oynamaktadır (Kim, Lee, Choi, Yoo and Yang 2012). Örneğin MMP-3, MMP-8 ve MMP-9'un hastalığın ilerleyişi ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (Zhou et al 2014).

2.3.2. Matriks Metalloproteinaz-9 (Gelatinaz B)

Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), kollajen IV degradasyonunda rol oynamaktadır. KBB geçirgenliğinden sorumlu olan beyin epitelinin bazal membranının önemli bir bileşenidir (Evans et al 1997, Lukes et al 1999). MMP-9 matriksin yeniden düzenlenmesinde çeşitli hücre aktivitesini düzenlemekte, hücrel farklılaşma, hücre-hücre teması ve hücre göçü, sitokinlerin salınması, büyüme faktörü aktivitesinin düzenlenmesi, apoptozis, anjiyogenez ve inflamasyon gibi

çeşitli fizyolojik fonksiyonlara katılmaktadır (Schonbeck et al 1998, Kowluru et al 2011, Kim et al 2012, Zimowska et al 2013, Verslegers et al 2013, Stawarski et al 2014). Ayrıca artrit, solunum yolu hastalıkları, kanser ve kardiyovasküler bozuklukların patogeneğinde rol oynamaktadır. MMP-9 ekspresyonu normal dokularda düşük veya mevcut değildir. Fakat ekspresyon seviyesi inflamasyon, neoplazi ve yara iyileşmesi gibi patolojik durumlar esnasında artmaktadır (Kothari et al 2014).

MMP-9, R.A'da önemli bir hücre dışı enzimdir (Ou, Li, Li, Lin and Li 2011). R.A'da endojen MMP-9; sinovyal fibroblastların yaşamlarını sürdürmelerine, çoğalmalarına, yer değiştirmelerine katkı sağlamaktadır. MMP-9, RA sinovyal fibroblast aracılı inflamasyonu ve kıkırdak degradasyonunu uyarılmaktadır (Xue et al 2014). MMP-9 ekspresyon seviyesine bakıldığında; R.A hastalarının serum ve eklem sinovyal sıvısında yüksek olduğu, hastalığın ilerlemesi ve şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Dong et al 2004, Giannelli et al 2004, Xeu et al 2014). Aktif R.A hastalarının serum MMP-9 seviyelerine bakıldığında ise sağlıklı bireylere göre önemli ölçüde yüksek olduğu, R.A hastalarının sinovyal sıvısında da MMP-9 seviyesinin artmış olduğu saptanmıştır (Kotani et al 2012, Kim et al 2012).

2.4. ROMATOİD ARTRİT VE SIKI BAĞLANTI KOMPLEKSİ (TJ: *TIGHT JUNCTION*) İLİŞKİSİ

2.4.1. Sıkı Bağlantı Kompleksi Ailesi

Sıkı bağlantılar, epitel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde, hücreleri sıkıca sararak geçişe engel olmaktadır. Tıkayıcılık ve geçirgenlik özellikleri hücre tipine ve yerine göre değişkenlik göstermektedir. KBB'nin, kan-göz ve kan-testis bariyerlerinin temelini oluşturmaktadır. Plazma zarının apikal ve bazolateral bölgeleri arasında bir sınır çizmektedirler. Komşu hücrelerin plazma zarları bir veya daha çok temas noktaları ile kaynaşmış görünüme sahiptir. Hücrelerin temas noktalarında *occludin* ve *claudin* (Cld) protein ailesi gibi farklı transmembran proteinleri yer almaktadır (Ovalle and Nahirney 2009). Kollajen ile oluşturulan artrit (CIA) modelinde

KBB'nin hiperpermeabilitesinin ve TJ proteinlerinin ekspresyonunun değiştiği gösterilmiştir (Nishioku et al 2010).

2.4.2. Claudin Protein Ailesi

Cld ailesi gen ya da protein seviyesinde karakterize edilmiş en az 26 farklı alt tip içermektedir (Ouban and Ahmed 2010, Protze et al 2015). Cld'lerin aktivitesi fosforilasyon, glikosilasyon, metilasyon, palmitoillenme ve bunun yanı sıra hormonlar, prostaglandinler ve sitokinler aracılığıyla oluşan sinyaller gibi çeşitli post-translasyonel olaylar tarafından düzenlenmektedirler (Awan et al 2014). Cld ailesi, epitelyal ve endotelyal hücre tabakalarındaki hücre polaritesinin sürdürülmesinde ve parasellüler geçirgenliğin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Lal-Nag and Morin 2009). Son alışmalarda Cld-3, 4 ve 6 gibi bazı Cld'lerin ekspresyonunun kanser hastalarının hasta prognozunda biyolojik belirteç olarak kullanılabileceği önerilmektedir (Li et al 2014, Micke et al 2014).

2.4.2.1. Claudin-5

Cld ailesinin yesi olan Cld-5, beyin damar endotelinde yüksek seviyede eksprese olmaktadır (Burek, Steinberg and Förster 2014). Cld-5'in transkripsiyonel ve posttraslasyonel düzenlenmesi fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemlidir. Cld-5'in ekspresyonunun baskılanması, nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon da KBB geçirgenliğindeki artış ile korele bulunmuştur (Beard et al 2011, McColl et al 2008). Cld-5'in aşırı ekspresyonunun bariyerin geriminin artışına neden olarak inmede ya da travmatik beyin hasarında etkili olduğu düşünülmektedir (Ohtsuki et al 2007, Kleinschnitz et al 2011, Thal et al 2012). Birkaç patolojik durumda Cld-5'in etkisi gösterilmiş olmasına rağmen ekspresyonunun düzenleyici mekanizmaları henüz tam olarak tanımlanmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmaya Ekim-Aralık 2014 tarihlerinde Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Korucuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniğine başvuran, 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) tanı kriterlerine göre kesin tanısı konmuş, rastgele yöntemle seçilen, aynı tedavi protokolü uygulanan, yaşları 20-60 yaş aralığında olan 18 erkek ve 57 kadın hastadan oluşan 75 R.A hastası dahil edilmiştir. Ayrıca hastanemizin polikliniğine *check-up* için başvuran bireyler arasından kronik, romatolojik hiçbir hastalığı olmayan yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksleri yönünden hasta grubuyla benzer özelliklere sahip gönüllü 10 kişi sağlıklı bireyler (SB) olarak belirlenmiştir. Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksleri, sigara alışkanlıkları, vb. sosyodemografik verileri ile şikayetlerinin başlama süreleri, tanı süreleri, tanıda gecikme süreleri, klinik remisyon varlığı, kullandığı DMARD sayıları, aile öyküsü gibi klinik veriler hasta dosyalarından alınmıştır.

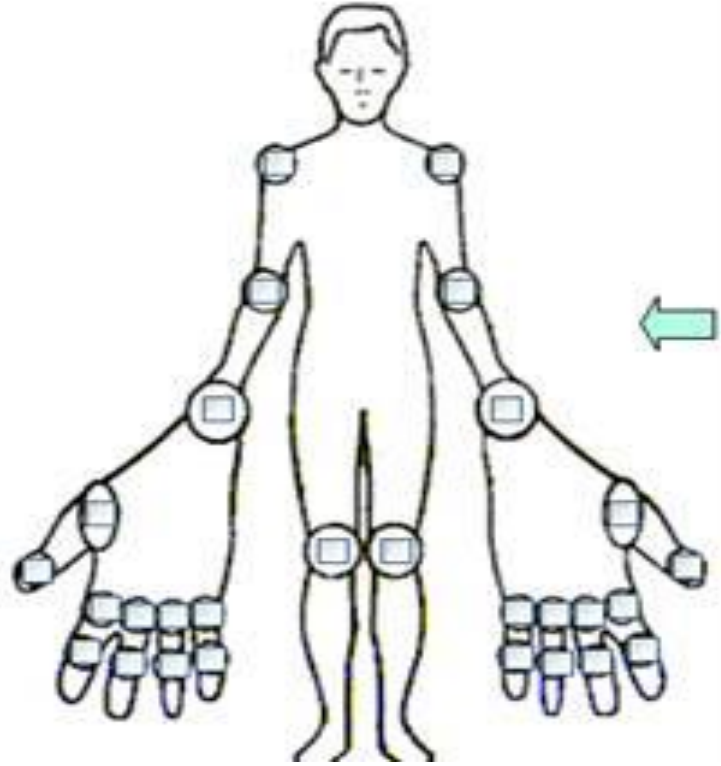
Hastalar bilgilendirildikten sonra 10 ml periferik venöz kan örneği hastalardan alınmıştır. Tüm örnekler Rotofix 32 A marka (Hettich, Zentrifugen) santrifüj cihazında 4000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrılmış, çalışma gerçekleşene kadar -80°C de saklanmıştır.

3.1.1. Hasta Grupları

Hastalık aktivitesi çeşitli klinik verilerin sonuçlarının da kullanılarak hesaplandığı DAS-28 (Hastalık aktivite indeksi -28) skoru ile belirlenmiştir. DAS-28; iki taraflı olarak omuz, dirsek, el bileği, elde MKF, elde PIF ve diz eklemlerinde olmak üzere 28 eklemden hassas eklem sayısı (HES) ve şiş eklem sayısı (ŞES) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniği uzmanı (H. H.) tarafından değerlendirilmiştir (Şekil 3).

DAS-28 hesaplaması yaparken C-reaktif protein (CRP) ve Genel Sağlık Değerlendirmesi (GSD, hastanın kendini genel olarak değerlendirmesi) bulgularını içeren aşağıdaki formül kullanılmıştır. Tüm bu parametreler kullanılarak hesaplama programında sabit bir formülle skor hesaplanmıştır.

$$\text{DAS-28} = (0.56 \times \sqrt{\text{HES}}) + (0.28 \times \sqrt{\text{ŞES}}) + (0.36 \times \ln(\text{CRP}+1)) + (0.014 \times \text{GSD}) + 0.96$$



Şekil 3. DAS-28 hesaplanmasında değerlendirilen eklemler.

DAS-28 skoruna göre elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda hastaların gruplandırılması aşağıdaki gibi yapılmıştır.

DAS-28: <2,6 ise ACR kriterlerine göre remisyon grubu (R.G, n=16)

DAS-28: 2,6-3,2 ise hastalık şiddeti hafif olan grup (H.H.G, n=16)

DAS-28: 3,2-5,1 ise hastalık şiddeti orta olan grup (O.H.G, n=28)

DAS-28: >5,1 ise hastalık şiddeti yüksek olan grup (Y.H.G, n=15).

3.2. SAĞLIK DEĞERLENDİRME ANKETİ

Sekiz aktiviteyi içeren 20 sorudan oluşan sağlık değerlendirme anketi (HAQ) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniği uzmanı (H. H.) tarafından değerlendirilmiştir. Sorular giyinme, ayağa kalkma, yemek yeme, yürüme, temizlik, ulaşma, kavrama ve ev dışı aktiviteler gibi günlük yaşam aktivitelerini sorgulayan sorulardan oluşmaktadır. Her cevap 0-3 arası derecelendirilmektedir. Hastalara aktiviteleri yaparken zorlanma dereceleri sorulur. Zorlanmadan yapabiliyorsa 0, biraz zorlanıyorsa 1, daha fazla zorlanarak veya yardımla yapabiliyorsa 2, hiç yapamıyorsa 3 puan verilir. Her alandaki en yüksek (en kötü) puan, o alanın puanı olarak kabul edilir. Alanların puanları toplanıp, toplam skor sekize bölünerek HAQ skoru elde edilir. HAQ fonksiyonel durumu yansıtan bir ankettir. HAQ skorunun hastalık aktivite göstergeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Turhanoglu 2002, Küçükdeveci et al 2004). Erken dönemde HAQ skoru ile özürülüğün gösterilmesi kötü prognoz ile ilişkilidir. Bununla birlikte radyolojik hasardan ziyade ileride gelişebilecek fonksiyonel kısıtlılık ile ilgilidir. HAQ skoru fonksiyonel kısıtlılık, iş gücü kaybı ve mortaliteyi önceden belirlemede en önemli belirteçtir ve bu nedenle erken R.A'da prognozu belirleyen faktörler arasında yer almaktadır (Wolfe et al 1988, Wolfe 2000).

3.3. C-REAKTİF PROTEİN

Tüm hasta gruplarından ve sağlıklı bireylerden alınan serum örneklerinde CRP düzeyleri; Immage 800 (Beckman Coulter®, ABD) otomatize nefelometre cihazında nefelometrik yöntemle çalışılmıştır. CRP referans aralığı 1-190 mg/L olarak alınmıştır.

3.4. ERİTROSİT SEDİMENTASYON HIZI

Tüm hasta gruplarından ve sağlıklı bireylerden alınan serum örneklerinde eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) analizatör (ALS-20, Alaris) cihazı ile ışık hızı yöntemi

kullanılarak çalışılmıştır. Bu değer verilen zaman periyodu içinde vertikal bir tüp içinde eritrositlerin düşme mesafesi ölçülerek hesaplanmaktadır. ESH referans aralığı erkeklerde 10 mm/saat, kadınlarda 20 mm/saat olarak alınmıştır.

3.5. ROMATOİD FAKTÖR

Tüm hasta gruplarından ve sağlıklı bireylerden alınan serum örneklerinde RF düzeyi; Immage 800 (Beckman Coulter®, ABD) otomatize nefelometre cihazında nefelometrik yöntemle çalışılmıştır. Bu yöntem insan gamaglobulini veya koyundan elde edilmiş anti-insan gama-globulinininden oluşan bir immünkompleks ile kaplı polisteren mikro partiküllerin RF ile aglütinasyonu esasına dayanmaktadır. RF düzeyi 20 U/mL'den yüksek olanlar pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.6. ANTİ-SİKLİK SİTRÜLİNLENMİŞ PEPTİD

Tüm hasta gruplarından ve sağlıklı bireylerden alınan serum örneklerinde anti-CCP düzeyi ARCHITECT 2000 (Abbott Diagnostics, ABD) otomatik cihazı yardımıyla mikropartikül ELISA yöntemiyle prosedüre uygun olarak çalışılmıştır. Bu yöntemde sitruline edilmiş siklik bir peptid (CCP) ile antikolar tüm serumlarında belirlenmiştir. Anti-CCP <0.5 U/ml negatif, ≥ 0.5 U/ml pozitif olarak değerlendirildi. RF negatif hastalarda anti-CCP çok önemli tanısal değer taşımaktadır.

3.7. ELİSA ÇALIŞMALARI

3.7.1. Claudin-5

Rutin çalışmalar sonrasında arta kalan serum örnekleri ile oluşturulan arşivden seçilerek hazırlanan hasta ve sağlıklı bireylerde Cld-5 düzeyleri ELİSA yöntemiyle CK-E91064 katalog numaralı Cld-5 kiti (*Eastbiopharm, Chinese*) kullanılarak *Triturus (Grifols, Spain)* otomatik cihazı aracılığı ile aşağıdaki protokole uygun olarak ölçülmüştür.

Test Protokolü;

Önceden belirlenen kuyucuklara standard dilüsyondan 50 µL, *Streptavidin-Horseradish peroxidase (HRP)*'den 50 µL eklendi.

Test kuyucuklarına 40 µL örnek eklendikten sonra 10 µL Cld-5 antikor ve 50 µL *Streptavidin-HRP*'den eklendi ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

Yıkama solüsyonunu 30 kez seyrelttikten sonra kuyucuklar 5 kez yıkandı ve su uzaklaştırıldı.

Tüm kuyucuklara *chromogen* solüsyonu A (50µL) ve B (50µL) eklendi. Yavaşça karıştırıldı ve ışıksız ortamda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.

Tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve 15 dakika sonra 450 nm dalga boyunda okuyucuda absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edildi.

3.7.2. Matriks Metalloproteinaz-9

Serum arşivinden oluşturulan hasta ve sağlıklı bireylerde MMP-9 düzeyi ELİSA yöntemine dayalı, MMP-9 *Platinum (eBioscience, BMS2016/2, USA)* kiti kullanılarak *Triturus (Grifols, Spain)* otomatik cihazı aracılığı ile aşağıdaki protokole uygun olarak ölçülmüştür.

Test Protokolü

Kuyucuklar iki kez 400 µL *wash buffer* ile yıkandı.

Belirlenen kuyucuklara standard dilüsyondan 100 µL eklendi.

Kör için 100 µL *assay buffer* eklendi.

90 µL *assay buffer* tüm numune kuyucuklarına eklendi.

Her bir numuneden 10 µL numune kuyucuklarına eklendi.

Tüm kuyucuklara 50 µL *biotin-conjugate* eklendi.

2 saat oda sıcaklığında (18-25 °C) inkübe edildi.

4 kez *wash buffer* ile yıkandı.

Tüm kuyucuklara 100 µL *Streptavidin-HRP* eklendi.

1 saat oda sıcaklığında (18-25 °C) inkübe edildi.

4 kez *wash buffer* ile yıkandı.

Tüm kuyucuklara 100 µL 3,3',5,5' - tetramethylbenzidine (TMB) *substrate solution* eklendi.

Oda sıcaklığında (18-25 °C) 10 dakika inkübe edildi.

Tüm kuyucuklara 100 µL *stop* solüsyonu eklendi ve mikroplate okuyucuda 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edildi.

3.7.3. Neuroserpin

Serum örnekleri ile oluşturulan arşivden seçilerek hazırlanan hasta ve sağlıklı bireylerde N.S düzeyi ELİSA yöntemine dayalı, CK-E90771 katalog numaralı *neuroserpin* kiti (*Eastbiopharm, Chinese*) kullanılarak *Triturus (Grifols, Spain)* otomatik cihazı aracılığı ile aşağıdaki protokole uygun olarak ölçülmüştür.

Test Protokolü

10 standard kuyu belirlendi ve ilk ve ikinci kuyucuğa 100 µL standard, 50 µL standard dilüsyon eklendi. Karıştırıldıktan sonra ilk ve ikinci kuyucuktan 100 µL 3. ve 4. kuyucuklara aktarılarak dilüsyon gerçekleştirildi. Bu işlem standard kuyucukların tümünde gerçekleştirildi.

Dilüsyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µL örnek eklendi.

Test kuyucuklarına 40 µL *sample* dilüsyon ekledikten sonra 10 µL test örneği eklendi ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

Yıkama solüsyonunu 30 kez seyrelttikten sonra kuyucuklar 5 kez yıkandı ve su uzaklaştırıldı.

Her bir kuyucuğa 50 µL *HRP-Conjugate* ajanı eklendi ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

Yıkama solüsyonunu 30 kez seyrelttikten sonra kuyucuklar 5 kez yıkandı ve su uzaklaştırıldı.

Tüm kuyucuklara *chromogen* solüsyonu A (50 µL) ve B (50 µL) eklendi ve 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.

Tüm kuyucuklara 50 µL *stop* solüsyonu eklendi ve 15 dakika sonra mikroplate okuyucuda 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edildi.

3.8. DIŞLAMA KRİTERLERİ

Çalışmaya Ekim-Aralık 2014 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Korucuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniğine başvuran R.A hastalarından R.A kriterlerini karşılamayan hastalar, RF veya anti-CCP negatif olup seronegatif olarak tanımlanan hastalar, geçmişteki klinik özellikleri belli olmayan veya başka bir romatizmal hastalık nedeniyle tedavi gören hastalar, çalışma sırasında mental açıdan soruları anlayıp cevap verme yetisine sahip olamayacak durumdaki hastalar, nörolojik hastalığa sahip olanlar, obezite, diabetes mellitus, böbrek, karaciğer ve kalp hastalığı, kronik hastalığı olanlar ve gebeler çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmamızdan elde edilen bulgular değerlendirilirken verilerin istatistiksel analizinde SPSS 16 (IBM SPSS istatistik) programı kullanılmıştır. Elde edilen verilerin ortalama \pm SD (standard sapma), çeyrekler arasındaki fark ve varyansları hesaplanmıştır. Çalışma grupları arasındaki farkların belirlenmesinde One-Way ANOVA, korelasyon testinde ise Pearson Correlation testleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri sonrasında p değeri $<0,05$ olanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.10. ETİK ONAY

Çalışmamıza Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafınca bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığı 71522473/050.01.04/86 sayısı ile karara bağlayarak çalışma onayı verilmiştir (Ek 1).

4. BULGULAR

4.1. HASTA TAKİBİ VE DEMOGRAFİK ÖZELLİKLER

Çalışmaya 75 hasta ve 10 sağlıklı olmak üzere 85 birey dahil edilmiştir. R.A hastalarının % 24 erkek (n=18), % 76 (n=57) kadın ve yaş ortalaması $48,12 \pm 11,23$ olarak belirlendi. Sağlıklı bireylerin ise % 40'ı (n=4) erkek, % 60'ı (n=6) kadın ve yaş ortalamaları $46,2 \pm 12,41$ olarak bulunmuştur. Hastaların ortalama hastalık süresi $51,01 \pm 38,18$ ay, tanı süreleri $43,56 \pm 36,95$ ay, tanıda gecikme süreleri $7,77 \pm 5,01$ ay olarak belirlenmiştir. DAS-28 sonuçlarına göre R.G'de 16 hasta (% 21,33), H.H.G'de 16 hasta (% 21,33), O.H.G'de 28 hasta (% 37,33), Y.H.G'de 15 (% 20) hastaydı (Tablo 1). Sigara kullanımı değerlendirmesinde; sigara içen oranı hasta grubunda % 34,7, sağlıklı bireylerde ise % 40 olarak belirlenmiştir. Hastaların sentetik DMARD kullanımı R.G döneminde $1,06 (\pm 0,25)$; H.H.G'de $2,19 (\pm 0,54)$; O.H.G'de $2,22 (\pm 0,84)$; Y.H.G'de $3,47 (\pm 0,52)$ olarak saptanmıştır. HAQ skoru R.A hastalarında $2,71 \pm 0,13$ olarak belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

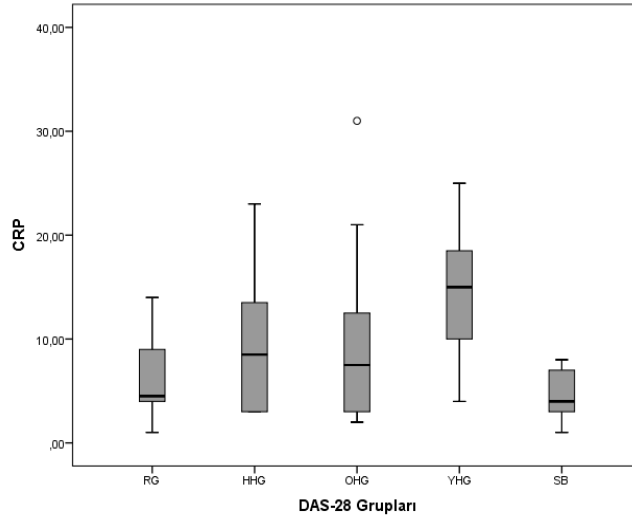
Özellikler	R.A hastaları	Sağlıklı
Yaş, ortalama \pm SD (yıl)	$48,12 \pm 11,23$	$46,2 \pm 12,41$
Cinsiyet (% kadın)	76,0	60,0
Sigara kullanımı (%)	34,7	40,0
Tanı süresi, ortalama \pm SD (ay)	$43,56 \pm 36,95$	-
Hastalık süresi, ortalama \pm SD (ay)	$51,01 \pm 38,18$	-
Tanıda gecikme süresi, ortalama \pm SD (ay)	$7,77 \pm 5,01$	-
HAQ skoru, ortalama \pm SD	$2,71 \pm 0,13$	-

SD: Standard sapma; HAQ: Sağlık Değerlendirme Anketi

4.2. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ C-REAKTİF PROTEİN (CRP) ANALİZİ

Çalışmamızdan elde edilen verilere bakıldığında DAS-28 skorlamasına göre hastalık aktivitesi değerlendirilen R.A hastalarının CRP değerleri: R.G’de 6,18 (\pm 3,72); H.H.G’de 9,68 (\pm 7,44); O.H.G’de 8,87 (\pm 6,89); Y.H.G’de 14,60 (\pm 6,36); sağlıklı bireylerde ise 4,72 (\pm 2,49) olarak saptanmıştır (Şekil 4, Tablo 2).

Y.H.G hastalarının CRP değerleri diğer alt gruplar ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark; R.G ile $p=0,002$, O.H.G ile $p=0,032$ ve sağlıklı bireyler ile $p=0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4. DAS-28 gruplandırmasına göre CRP değişimleri

Tablo 2. CRP'nin gruplar arasındaki betimsel analizi

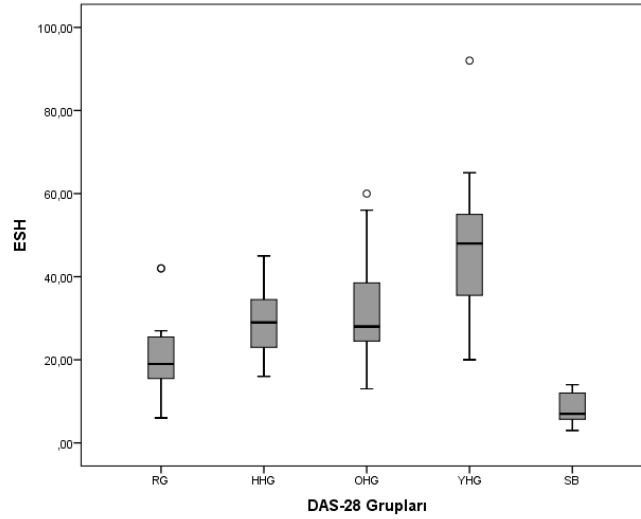
CRP Değerlendirmeleri	Hasta Grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	6,1	9,68	8,87	14,60	4,72
SD	3,7	7,44	6,89	6,36	2,49
Varyans	13,	55,42	47,53	40,50	6,21
IQR	5,5	10,75	9,75	11,00	5,00

IQR: Çeyrekler arasındaki fark

4.3. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ERİTROSİT SEDİMENTASYON HIZI (ESH) ANALİZİ

R.A hastalarının ESH ortalama değerleri: R.G’de 21,62 (\pm 9,53); H.H.G’de 29,31 (\pm 8,93); O.H.G’de 32,03 (\pm 12,27); Y.H.G’de 47,66 (\pm 17,96); sağlıklı bireylerde ise 8,40 (\pm 3,98) olarak saptanmıştır (Şekil 5, Tablo 3).

Çalışma grupları için ESH değerleri karşılaştırıldığında tüm hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bununla birlikte sağlıklı bireyler ile hasta gruplarının ESH değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$).



Şekil 5. DAS-28 gruplandırmasına göre ESH değişimleri

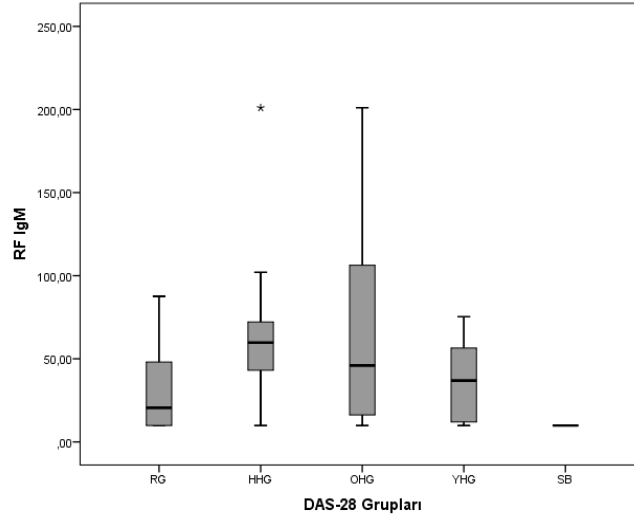
Tablo 3. ESH’in gruplar arasındaki betimsel analizi

ESH değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	21,62	29,31	32,03	47,66	8,40
SD	9,53	8,934	12,27	17,96	3,98
Varyans	90,91	79,82	150,70	322,66	15,88
IQR	10,50	11,75	14,50	22,00	7,00

4.4. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ROMATOİD FAKTÖR (RF) IGM ANALİZİ

R.A hastalarının elde edilen verileri değerlendirildiğinde RF ortalamaları: R.G’de 33,04 (\pm 38,98); H.H.G’de 64,15 (\pm 44,64); O.H.G’de 72,17 (\pm 65,32); Y.H.G’de 37,58 (\pm 24,42); sağlıklı bireylerde ise 9,92 (\pm 1,12) olarak hesaplanmıştır (Şekil 6, Tablo 4).

Y.H.G hastalarının RF değerleri diğer alt gruplar ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark; R.G ile $p=0,001$, H.H.G ile $p=0,014$, O.H.G ile $p=0,42$ ve sağlıklı bireyler ile $p<0,001$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bununla birlikte RF IgM ile ESH arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($R=0,222$, $p<0,005$).



Şekil 6. DAS-28 gruplandırmasına göre RF IgM değişimleri

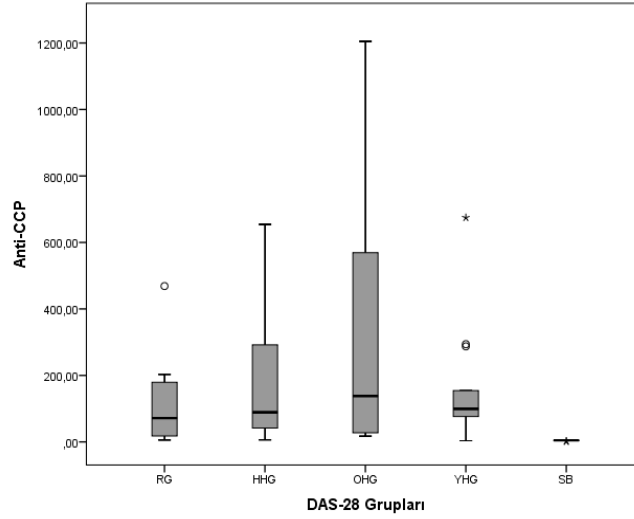
Tablo 4. RF IgM’in gruplar arasındaki betimsel analizi

RF IgM değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	33,03	64,14	72,16	38,46	9,03
SD	28,98	44,63	65,32	23,57	1,45
Varyans	840,00	1992,70	4267,10	555,64	2,11
IQR	40,03	31,56	91,14	45,58	1,30

4.5. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ ANTİ-SİKLİK SİTRÜLİNLENMİŞ PEPTİD (ANTI-CCP) ANALİZİ

R.A hastalarının anti-CCP için ortalama değerleri R.G’de 114,71 (\pm 120,32); H.H.G’de 201,51 (\pm 228,29); O.H.G’de 332,90 (\pm 389,77); Y.H.G’de 162,03 (\pm 176,80); sağlıklı bireylerde ise 4,02 (\pm 1,22) olarak bulunmuştur (Şekil 7, Tablo 5).

R.G ile O.H.G karşılaştırıldığında anti-CCP değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,071$). Ayrıca sağlıklı bireyler ile hasta gruplarının anti-CCP değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,008$). Bununla birlikte Anti-CCP ile Cld-5 arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($R= 0,241$, $p<0,005$).



Şekil 7. DAS-28 gruplandırmasına göre anti-CCP değişimleri

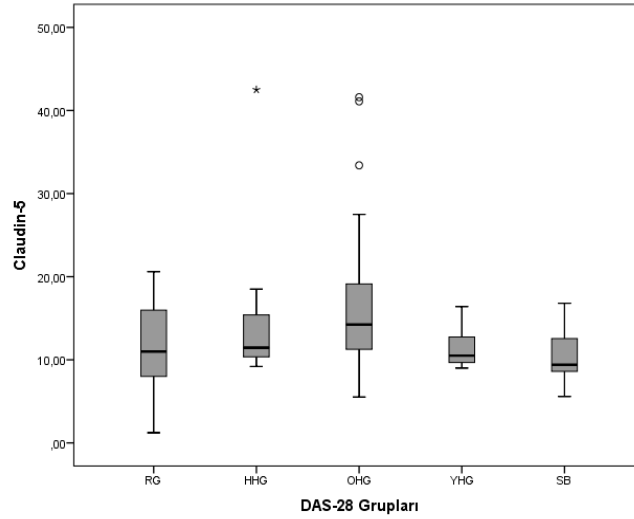
Tablo 5. Anti-CCP'nin gruplar arasındaki betimsel analizi

Anti-CCP değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	114,71	201,51	332,90	162,03	4,02
SD	120,32	228,29	389,77	176,80	1,22
Varyans	14479,30	52116,51	151924,47	31258,89	1,50
IQR	168,77	287,57	633,00	159,00	0,90

4.6. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ *CLAUDİN-5* ANALİZİ

Çalışmamızdan elde edilen veriler değerlendirildiğinde R.A hastalarının Cld-5 için ortalama değerleri R.G’de 11,59 (\pm 5,48); H.H.G’de 14,24 (\pm 7,99); O.H.G’de 16,70 (\pm 9,36); Y.H.G’de 11,34 (\pm 2,26); sağlıklı bireylerde ise 10,35 (\pm 3,40) olarak saptanmıştır (Şekil 8, Tablo 6).

Hastalık aktivitesi ile Cld-5 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak sağlıklı bireyler ve hasta grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,035$). Bununla birlikte Cld-5 ile anti-CCP arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($R=0,241$, $p<0,005$).



Şekil 8. DAS-28 gruplandırmasına göre Cld-5 değişimleri

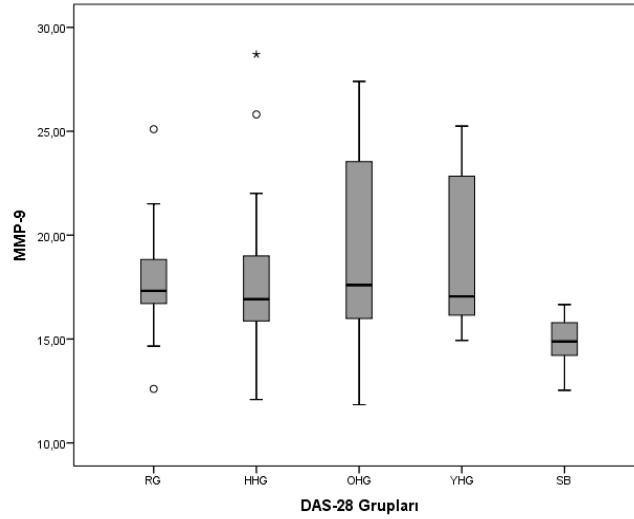
Tablo 6. *Claudin-5*'in gruplar arasındaki betimsel analizi

Cld-5 değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	11,59	14,24	16,70	11,34	10,35
SD	5,48	7,99	9,36	2,26	3,40
Varyans	30,13	63,97	87,68	5,14	11,61
IQR	8,67	5,47	7,97	3,55	5,04

4.7. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ MMP-9 ANALİZİ

R.A hastalarının MMP-9 için ortalama değerleri R.G’de 17,77 (\pm 2,87); H.H.G’de 18,15 (\pm 4,18); O.H.G’de 19,20 (\pm 4,33); Y.H.G’de 18,92 (\pm 3,98); sağlıklı bireylerde ise 14,83 (\pm 1,25) olarak saptanmıştır (Şekil 9, Tablo 7).

Çalışma grupları için MMP-9 değerlendirildiğinde; sağlıklı bireyler ile O.H.G arasında $p=0,013$ iken, sağlıklı bireyler ve Y.H.G arasında $p=0,055$ ’dir. Tüm gruplar ile sağlıklı bireyler arasında $p=0,026$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir. Bununla birlikte MMP-9 ve ESH arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır ($R=0,393$, $p<0,001$).



Şekil 9. DAS-28 gruplandırmasına göre MMP-9 değişimleri

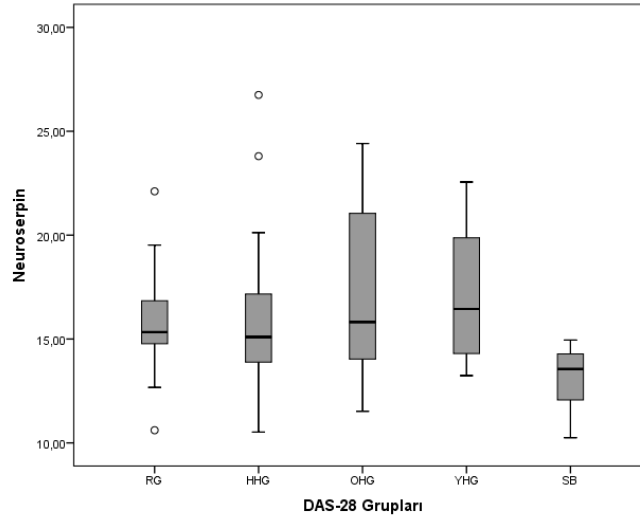
Tablo 7. MMP-9’un gruplar arasındaki betimsel analizi

MMP-9 değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	17,77	18,15	19,20	18,92	14,83
SD	2,87	4,18	4,33	3,98	1,25
Varyans	8,26	17,53	18,83	15,85	1,56
IQR	2,82	3,94	7,86	6,80	1,90

4.8. ROMATOİD ARTRİT HASTALARININ *NEUROSERPİN* ANALİZİ

R.A hastalarının N.S için ortalama değerleri: R.G’de 15,73 (\pm 2,70); H.H.G’de 16,28 (\pm 4,14); O.H.G’de 17,31 (\pm 3,84); Y.H.G’de 17,15 (\pm 3,11); sağlıklı bireylerde ise 13,16 (\pm 1,50) olarak saptanmıştır (Şekil 10, Tablo 8).

Çalışma grupları için N.S düzeyi değerlendirildiğinde; sağlıklı bireyler ile O.H.G arasında $p=0,008$ iken, sağlıklı bireyler ve Y.H.G arasında $p=0,031$ olarak bulunmuştur. Tüm gruplar ile sağlıklı bireyler arasında $p=0,014$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Bununla birlikte N.S ile hem MMP-9 ($R=0,953$, $p<0,001$) hem ESH ($R=0,404$, $p<0,001$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.



Şekil 10. DAS-28 gruplandırmasına göre N.S değişimleri

Tablo 8. *Neuroserpin*'in gruplar arasındaki betimsel analizi

N.S değerlendirmeleri	Hasta grupları				
	RG	HHG	OHG	YHG	SB
Ortalama	15,73	16,28	17,31	17,15	13,16
SD	2,70	4,14	3,84	3,11	1,50
Varyans	7,32	17,18	14,77	9,72	2,25
IQR	2,75	4,03	7,06	5,72	2,33

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada R.A hastalarında Cld-5, MMP-9 ve N.S seviyelerinin sağlıklı bireylerden önemli ölçüde farklı olduğu ilk kez gösterilmiştir (p=0,035, p=0,026 ve p=0,014, sırasıyla). O.H.G'de MMP-9 serum seviyeleri sağlıklı bireylerin değerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (p=0,013). Y.H.G'de MMP-9 seviyeleri ise sağlıklı bireylerden istatistiksel olarak orta derecede farklıdır (p=0,055). Sağlıklı bireyler ile O.H.G ve Y.H.G karşılaştırıldığında serum N.S seviyeleri önemli ölçüde farklıdır (p=0,008, p=0,031, sırasıyla). Ayrıca ESH değerlerine bakıldığında, hasta ve sağlıklı bireylerin istatistiksel olarak birbirlerinden farklılık gösterdiği bulunmuştur (p<0,001). Y.H.G'de CRP değerleri R.G ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,002). R.A hastalarının RF ve anti-CCP değerleri sağlıklı bireylerinki ile karşılaştırıldığında oldukça yüksektir (p = 0.008, p <0,001).

N.S, serin proteaz inhibitörünün ya da serpin süper ailesinin bir üyesidir (Belorgey et al 2011). Trombolitik proteazlar, reseptörleri ve serin proteaz inhibitörlerinin (serpinler), hemostaz ve vasküler inflamasyonda düzenleyici/dengeleyici olarak önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu da N.S'nin u-PA ve t-PA'yı inhibe ettiğini göstermektedir (Munuswamy-Ramanujam et al 2010). Önceki çalışmalarda, su-PAR konsantrasyonu R.A hastalarında ölçülmüştür. su-PAR'ın DAS-28 skorlamasına göre, R.G'de inflamatuvar aktivitenin değerlendirilmesinde uygun bir gösterge olabileceği ifade edilmiştir (Slot et al 1999, Toldi et al 2013). Başka bir çalışmada R.A dokusunda u-PAR, PAI-1 ve PAI-2 seviyelerinde artış bulunmuştur (Busso et al 1997). Aksine Cook ve ark (2002) tarafından, kollojen ile oluşturulan artrit modelinde u-PA etkisinin zararlı olduğu bunun yanı sıra t-PA'nın korucuyu olduğu gösterilmiştir. PA fonksiyonundaki değişikliklerin R.A'daki hastalık aktivitesine olan etkileri göz önüne alındığında, u-PA veya eklemlerdeki yerel t-PA

etkinliğini arttırmaya yönelik yaklaşımların R.A tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda; CRP, ESR değerlerinin yanı sıra N.S seviyelerinin sağlıklı bireylere göre R.A hastalarında artmış olduğu bulunmuştur. Bu da N.S'nin R.A hastalarında inflamasyon belirteci olabileceğini işaret etmektedir. Pıhtı oluşturucu (trombotik) ve pıhtı çözücü (trombolitik) kaskadlar ile serin proteazlar arasında bir ilişkinin olduğuna dair kanıtlar literatürde yer almaktadır. Bu serin proteazlar, normal serin proteaz inhibitör (serpin) fonksiyonundaki kayıp nedeniyle sistemik inflamasyonu oluşturabilen inflamatuvar sitokinler ile aktive olmaktadır (Chen et al 2013). DAS-28 skorlamasına göre O.H.G'de Cld-5 ve anti-CCP/RF IgM seviyelerinin birbiri ile ilişkili olduğu bu çalışmada belirlenmiştir. Anti-CCP/RFIgM arasındaki ilişki daha önceki çalışmalarda R.A hastalarında kardiyovasküler risk faktöründen bağımsız olarak endotelial fonksiyon bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (Hjeltnes et al 2011). Bizim çalışmamızın bulguları da bu çalışmaları desteklemektedir.

Literatürde R.A hastalarındaki hastalık aktivitesi ile endotelial fonksiyon bozukluğu arasındaki ilişki vasküler hücre yapışma molekülü-1 (VCAM-1), *von Willebrand* faktörü (vWF), pentraksin-3, asimetrik dimetil-L-arginin, çözümlü E-selektin, monosit kemotaktik protein-1 ile ortaya konulmuştur (Klimek et al 2014). Bu maddelerin çoğu inflamatuvar araçlar ve sitokinler tarafından etkilenmektedir ve belirtildiği gibi, R.A patogenezinin altında yatan mekanizmalara katkı sağlamaktadır. R.A tedavisinde önemli rol oynayan terapötik stratejiler ile ilgili olarak, özellikle de anti-TNF- α tedavileri hem inflamasyonu azaltarak hem de endotelial fonksiyon bozukluğunu iyileştirerek etki göstermektedir (Korkosz et al 2013). Bu açıdan bulgularımıza bakıldığında O.H.G'de Cld-5 ve N.S seviyeleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında, bu değerlerin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu yüksekliğe sentetik DMARD kullanımının süresi ile olan etkileşimin neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Dokuda gerçekleşen fizyolojik ve patofizyolojik olaylar, hücresel kan bileşenleri ile endotel hücre etkileşimlerini değiştirebilmektedir. Endotelial fonksiyonu pozitif

olarak etkileyebilen inflammatuar süreçlerin baskılanmasını hedefleyen terapötik uygulamaların hastalık aktivitesinde kısmi azalmaya neden olarak dolaşımdaki endotelial progenitor hücreleri arttırabildiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Spinelli et al 2013). Özellikle bu etki kısa süreli anti-TNF- α tedavisinde görülmektedir (Korkosz et al 2013). Bununla birlikte inflammatuar uyarılardan sonra hemen hemen her dokuda endotelial hücrelerde PAI'nın eksprese olduğu bulunmuştur (Sawdy and Loskutoff 1991). R.A hastalarında sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında selektin, vWF, sVCAM-1, sICAM-1, PAI ve t-PA'nın yüksek seviyede olduğu saptanmıştır (Jonsson et al 2001, McEntegart et al 2001). Cld-5 ve vWF'ün R.A'daki artışını gösteren çok yeni bir çalışma ekibimiz tarafından yayınlanmıştır (Gurol et al 2015). Bu çalışmanın bulguları önceki çalışmamızla da uyumludur.

Wallberg-Jonss ve ark (2002) tarafından vWF'den bağımsız olarak ESH ile ilişkili olan kardiyolipin (IgM ve IgA), dolaşımdaki immün kompleksler (vWF, d-dimer ve PAI gibi) ve endotelial orjinli hemostatik fonksiyonların R.A hastalarındaki hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Sağlıklı endotelial savunma mekanizmalarının inflamasyon ve risk faktörlerinin etkin olduğu koşullarda IL-1 β , TNF- α , CRP ve CD40/CD40 ligandı ile etkileşimde olarak eksprese olan adhezyon moleküllerini indüklediği gösterilmiştir(Dessein et al 2005).

Hastaları hastalık aktivitelerine göre sınıflandırdığımız alt gruplarından biri olan O.H.G'de Cld-5, MMP-9 ve anti-CCP değerlerinin diğer gruplara göre daha yüksek seviyede olduğu çalışmamızda bulunmuştur. R.A hastalarında grup içindeki bu farklılığın birçok olası mekanizma ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. İlk olasılığın R.G ve H.H.G'deki hastalarda otoimmünitenin tam olarak gelişmemesi ya da Cld-5 ve MMP-9 sirkülasyonundaki miktarın azalmasından dolayı olabileceğini düşünmekteyiz. Alternatif olarak, bu sonuçlar DAS-28 skoruna göre yüksek hastalık aktivitesi gösteren ancak klinik olarak belirgin olmayan R.A hastalarında Cld-5 ve MMP-9 sirkülasyonundan da kaynaklanıyor olabilir. Üstelik bu durumun Cld-5'in karmaşık bir regülasyona sahip olduğunun da habercisi olabilir ya da hastalık aktivitesi ile protein ekspresyonu arasındaki dengeyi de gösteriyor olabilir. Çeşitli

inflatuar ağrı uyarıcıları ile ilgili çalışmalar TJ proteinlerinin benzer düzenlemeye sahip olduğunu vurgulamaktadır. Beyin endotel hücrelerindeki N.S ve Cld-5 olmak üzere R.A ile ilişkili hastalık aktivitesi yanıtlarının potansiyel mekanizmalarını değerlendirmek için çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. R.A hastalarının hastalık aktivitesine göre serumlarında N.S ve Cld-5 ekspresyon düzeyinde saptanmış olan farklılığın uygun deneysel modeller ile beyin endotel dokusunda da araştırılması gerekmektedir. Ek olarak, Cld-5 ve N.S etkileşimine aracılık eden diğer yolların tanımlanmasının da gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Hayvan modelleri sayesinde Cld-5 ve N.S'nin etkilerinin daha ayrıntılı olarak araştırılabileceğini önermekteyiz.

Son çalışmalar plazminojen aktifleştiricileri ve inhibitörleri, MMP ailesi ve R.A arasındaki ilişki üzerinde yoğunlaşmaktadır. R.A'da fibroblast benzeri sinoviyositlerde esas olarak üretilen MMP'ler; hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesine ve onarılamayan proteolitik parçalanmasına aracılık eden proteazlardır. Aktif olmayan bir pro-MMP'nin aktivasyonu, u-PA ve t-PA serin proteinazları tarafından düzenlenen plazminojen-plazmin dizisinin de dahil olduğu birçok düzenleyici mekanizmalara bağlıdır. R.A hastalarının sinovyal sıvısında u-PA ve MMP-9'un seviyelerinin arttığı yeni bir çalışmada gösterilmiştir (Kim, KS et al 2012).

R.A hastalarında, endotel hücreleri tarafından salgılanan MMP'lerin aktivasyonu ve inhibisyonu arasındaki dengesizliğin, aşırı bir ESM degradasyonuna neden olabileceği bildirilmektedir (Li et al 2014). Çalışmamızda, doğal t-PA inhibitörü olan N.S düzeyi R.A'da önemli derecede artmış ve R.A hastalarındaki MMP-9 düzeyi ile güçlü bir korelasyon göstermiştir ($R=0,953$, $p<0,001$).

Birçok sentetik MMP inhibitörleri veya kollajenaz-seçici inhibitörler, R.A'nın hayvan modellerinde geliştirilmiş ve eklem yıkımını önleme yeterliliğini değerlendirmek üzere, R.A hastalarında test edilmiştir (Milner and Cawston 2005). Kollajenaz seçici inhibitörü olan Ro32-3555 (Trocade) (Hemmings et al 2001), oral olarak aktif hidroksamat MMP inhibitörü olan Novartis (eski Ciba-Geigy) ve CGS

27023A klinik olarak test edilmişlerdir (Ganu et al 1998). Ancak MMP inhibitörlerinden kaynaklanan yapısal ya da fonksiyonel değişiklikler nedeniyle bu çalışmaların *in vitro* ve *in vivo*'da test edilmesi için ileri çalışmalar gerekmektedir.

R.A inflamasyon patogeneğinde en önemli sitokin olarak bilinen IL-1 β MMP'lerin yüksek seviyede üretimini tetiklemektedir (Lee et al 2014). Fischer ve ark (2015) tarafından TNF- α ve IL-17'nin kombine blokajının; sitokin, kemokin ve insan mezenkimal hücrelerinden matriks enzim cevabının engellenmesinde oldukça etkili olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca doku harabiyetinin engellenmesinin artrit ile bağlantılı olduğu ve aynı zamanda kemik homeostazının yeniden dengelenmesinde olumlu bir etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda saptadığımız sağlıklı bireylere göre R.A hastalarının serum MMP seviyelerindeki artış daha önceden yapılan birkaç çalışma ile uyumludur (Moran et al 2009, Wang et al 2013).

Tetrasiklin ve benzerlerinin tedavi edici etkileri başarılı bir şekilde R.A hastalarının tedavisi için kullanılmaktadır. Tetrasiklinlerin geniş bir antibiyotik spektrumuna sahip olmalarının dışında, inflamasyon, proteoliz, anjiyogenez, apoptoz, kemik metabolizması ve patolojik MMP aktivitesinin inhibisyonu ile ilgili bazı biyolojik etkilere sahip olduğu gösterilmektedir. Ayrıca doksisisiklinin kullanılmasının MMP'in *down* regülasyonunu, vasküler duvar hasarının gelişimini ve MMP'ler aracılığıyla oluşan vasküler fonksiyon bozukluğunun azalmasında yararlı olabileceği ifade edilmektedir (Shehwaro et al 2014). Dolayısıyla, N.S'nin artrit patojenezinde MMP-9 aktivasyonu ile etkili olabileceğini kısmen de olsa düşünülebileceğini önermekteyiz. Bu hipotez, MMP aktivasyonu ve kollajen degradasyonuna serin ve sistein proteinazların katılımını tanımlayan daha önceki çalışmalar ile uyum göstermektedir (Milner and Cawston 2005). Ancak t-PA MMP aktivasyonunu gerçekleştirdiğinden, R.A hastalarının N.S seviyesindeki artış direkt ya da dolaylı olarak (inflamasyon ile ilişkili mekanizmalar aracılığıyla) MMP-9 ile ilişkili olabilir. Çalışmamızın temel kısıtlılığı R.A'da endotel hücrelerinde bol miktarda üretilen proinflamatuvar mediatörlerin ve sitokinlerin retrospektif bir çalışma olduğundan değerlendirilmemiş olmasıdır. Dolayısıyla proinflamatuvar/antiinflamatuvar

sitokinlerin ve mediatörlerin N.S, Cld-5 ve MMP-9 ile etkileşiminin değerlendirileceği ileri prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Özetle, bu çalışma R.A hastalarındaki endotelial fonksiyon/ fonksiyon bozukluğu biyobelirteçleri ve hastalık aktivitesi arasındaki ilişkilere dikkat çekmektedir. Cld-5, MMP-9 ve N.S düzeyleri sağlıklı bireylere göre R.A hastalarında artmıştır. Ancak, Cld-5, MMP-9 ve N.S ile ilişkili verilerin nasıl ve niçin oluştuğu tam olarak açık değildir. R.A hastalarında inflamatuvar ajanların kapiller endotel hücre yapısını bozarak kan beyin bariyerini bozabileceği ve R.A hastalarındaki artmış bulunan MMP-9'un da KBB'nin bozulduğunu yansıtan bir parametre olabileceği düşünülmektedir. Bu belirteçlerin hastalık aktivitesine olan etkisini gösteren mekanizmaları anlamak için yeni çalışmalara gereksinim vardır.

6. ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Romatoid artrit (R.A), yetişkin nüfusunun% 1 ila % 2'sini etkileyen önemli bir otoimmün hastalıktır. *Neuroserpin* (N.S) doku plazminojen aktivatör (t-PA) inhibitörü olan serin proteaz inhibitörüdür. tPA matriks metalloproteinazları (MMPler), özellikle MMP-9'u aktifleyebilmektedir. MMP-9'un anormal upregülasyonu kan beyin bariyerini çevreleyen bazal lamina proteinleri, sıkı bağlantı komplekleri ve ekstraselüler matriks degradasyonu ile oluşan kan beyin bariyerinin bozulması ile bağlantılıdır. Patolojik bazı hastalıklarda, MMP-9 ekspresyonu yükselmekte ve claudin-5 (Cld-5) ekspresyonunu azalmaktadır. Bu çalışmada R.A'lı hastalarda hastalığın klinik aktivitesi ile N.S, Cld-5 ve MMP-9 arasındaki ilişki araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Seçilen hastalar daha sonra kendi DAS-28 puanlarına göre dört gruba ayrıldı: remisyon grubu (R.G), 16 hasta (DAS-28 <2.6); hafif hastalık aktivitesi grubu (H.H.G), 16 hasta (DAS-28 > 2,6-3,2); orta hastalık aktivitesi grubu (O.H.G), 28 hasta (DAS-28 > 3,2-5,1); yüksek hastalık aktivitesi grubu (Y.H.G), 15 hasta (DAS-28 > 5.1). On sağlıklı birey (S.B) çalışmaya dahil edildi.

BULGULAR: Elde edilen veriler ilk defa Cld-5, MMP-9 ve N.S düzeylerinin sağlıklı bireylere göre R.A hastalarında anlamlı ölçüde farklı olduğunu (sırasıyla p = 0.035, 0.026 ve 0.014, sırasıyla) göstermektedir.

SONUÇ: Kısacası çalışmamız R.A'da hastalık aktivitesi ve endotel fonksiyon/disfonksiyon biyobelirteçleri arasında farklı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu bozukluğun nasıl ve niçin meydana geldiği tam olarak anlaşılmamaktadır. Plazmadaki N.S, MMP-9 ve Cld-5 ekspresyonu ile ilgili daha çok veriye ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Claudin-5, İnflamasyon, Matriks metalloproteinaz -9, Neuroserpin, Romatoid artrit

SUMMARY

The Role of Neuroserpin in Rheumatoid Arthritis

INTRODUCTION AND AIM: Rheumatoid arthritis (R.A) is a major autoimmune disease affecting 1% to 2% of the adult population. Neuroserpin (N.S) is a serine protease inhibitor and member of the serpin family that acts as an inhibitor of protease tissue plasminogen activator (t-PA). tPA can also activate matrix metalloproteinases (MMPs), specifically MMP-9. Abnormal upregulation of MMP-9 has been linked to blood brain barrier (BBB) disruption by extracellular matrix degradation, basal lamina proteins, and tight junctions surrounding the BBB. In pathological some diseases, MMP-9 expression levels increase and decreased expression of Cld-5. The present study investigated the relationship between N.S and Cld-5, as well as MMP-9, with respect to clinical activity of disease in patients with R.A

MATERIAL AND METHOD: Selected patients were then divided into four groups based on their DAS-28 scores: remission group (R.G), 16 patients (DAS-28 < 2.6); low disease activity group (H.H.G), 16 patients (DAS-28 > 2.6–3.2); moderate disease activity (O.H.G), 28 patients (DAS-28 > 3.2–5.1); high disease activity group (H.H.G), 15 patients (DAS-28 > 5.1). Ten healthy subjects (S.B) is integrated this study.

FINDINGS: Our results demonstrate, for the first time, that Cld-5, MMP-9, and N.S levels are significantly different in R.A patients relative to healthy subjects ($P = 0.035, 0.026, \text{ and } 0.014$, respectively).

RESULT: In brief, our study demonstrates differential associations of endothelial function/dysfunction biomarkers and disease activity in R.A How and why this impairment occurs is not fully understood, and more data regarding N.S, MMP, and Cld-5 expression in plasma are warranted.

Keywords: Claudin-5, Inflammation, Matrix metalloproteinase-9, Neuroserpin, Rheumatoid Arthritis

KAYNAKLAR

- Adibhatla RM, Hatcher JF. (2008). Tissue plasminogen activator (tPA) and matrix metalloproteinases in the pathogenesis of stroke: therapeutic strategies. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 7(3):243-53.
- Aksun S A, Özmen D, Bayındır O. (2001). Metalloproteinazlar, İnhibitörleri ve İlişkili Fizyolojik ve Patolojik Durumlar. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 21(4), 332-342.
- Alamanos Y, Drosos AA. (2005). Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*, 4(3):130-6.
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. (2010). 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*, 62(9):2569-81.
- Arend WP. (2001). The innate immune system in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 44(10):2224-34.
- Awan FM, Anjum S, Obaid A, Ali A, Paracha RZ, Janjua HA. (2014). In-silico analysis of claudin-5 reveals novel putative sites for post-translational modifications: Insights into potential molecular determinants of blood–brain barrier breach during HIV-1 infiltration. *Infection Genetics and Evolution*, 27, 355-365.

- Beard RS Jr, Reynolds JJ, Bearden SE. (2011). Hyperhomocysteinemia increases permeability of the blood-brain barrier by NMDA receptor-dependent regulation of adherens and tight junctions. *Blood*, 118(7):2007-14.
- Belcher C, Fawthrop F, Bunning R, Doherty M. (1996). Plasminogen activators and their inhibitors in synovial fluids from normal, osteoarthritis, and rheumatoid arthritis knees. *Ann Rheum Dis*, 55:230–6.
- Belorgey D, Irving JA, Ekeowa UI, Freeke J, Roussel BD, Miranda E, Pérez J, Robinson CV, Marciniak SJ, Crowther DC, Michel CH, Lomas DA. (2011). Characterisation of serpin polymers in vitro and in vivo. *Methods*, 53(3):255-66.
- Bu G, Williams S, Strickland DK, Schwartz AL. (1992). Low density lipoprotein receptor-related protein/alpha 2-macroglobulin receptor is an hepatic receptor for tissue-type plasminogen activator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:7427–7431.
- Burek M, Steinberg K, Förster CY. (2014). Mechanisms of transcriptional activation of the mouse claudin-5 promoter by estrogen receptor alpha and beta. *Mol Cell Endocrinol*, 392(1-2):144-51.
- Burska AN, Hunt L, Boissinot M, Strollo R, Ryan BJ, Vital E, Nissim A, Winyard PG, Emery P, Ponchel F. (2014). Autoantibodies to posttranslational modifications in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm*, 2014:492873.
- Busso N, Péclat V, So A, Sappino AP. (1997). Plasminogen activation in synovial tissues: differences between normal, osteoarthritis, and rheumatoid arthritis joints. *Ann Rheum Dis*, 56(9):550-7.
- Chandirasekar R, Kumar BL, Jayakumar R, Uthayakumar V, Jacob R, Sasikala K. (2014). Evaluation of clinical and cytogenetic parameters in Rheumatoid

arthritis patients for effective diagnosis. *Clin Chim Acta*, S0009-8981(14)00436-7.

Chen H, Zheng D, Abbott J, Liu L, Bartee MY, Long M, Davids J, Williams J, Feldmann H, Strong J, Grau KR, Tibbetts S, Macaulay C, McFadden G, Thoburn R, Lomas DA, Spinale FG, Virgin HW, Lucas A. (2013). Myxomavirus-derived serpin prolongs survival and reduces inflammation and hemorrhage in an unrelated lethal mouse viral infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 57(9):4114-27.

Cheret J, Lebonvallet N, Misery L, Le Gall-Ianotto C. (2003). Expression of neuroserpin, a selective inhibitor of tissue-type plasminogen activator in the human skin. *Exp Dermatol*, 21(9):710-1.

Chia S, Qadan M, Newton R, Ludlam CA, Fox KA, Newby DE. (2003). Intra-arterial tumor necrosis factor- α impairs endothelium-dependent vasodilatation and stimulates local tissue plasminogen activator release in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23(4):695-701.

Choy E. (2012). Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 51:v3-11.

Cook AD, Braine EL, Campbell IK, Hamilton JA. (2002). Differing roles for urokinase and tissue-type plasminogen activator in collagen-induced arthritis. *Am J Pathol*, 160(3):917-26.

Dai SM, Shan ZZ, Xu H, Nishioka K. (2007). Cellular targets of interleukin-18 in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 66(11):1411-8.

Dessein PH, Joffe BI, Singh S. (2005). Biomarkers of endothelial dysfunction, cardiovascular risk factors and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 7(3):R634-43.

- Dimitroulas T, Douglas KM, Panoulas VF, Toms T, Smith JP, Treharne GJ, Nightingale P, Hodson J, Kitas GD. (2013). Derangement of hemostasis in rheumatoid arthritis: association with demographic, inflammatory and metabolic factors. *Clin Rheumatol*, 32(9):1357-64.
- Dong WJ, Zhu P, Fan CM, Wang YH, Xiao LB. (2004). Expression of CD147 and matrix metalloproteinases in rheumatoid synovium. *Chin J Rheumatol*, 8:135–138.
- Erol Ç. (2008). İç Hastalıklar, İmmünoloji ve Romatoloji. MN Medical and Nobel Kitap Sarayı, Ankara, s.219-223.
- Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. (1997). Role of Matrix Metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion*, 58:520-8.
- Fay WP, Parker AC, Condrey LR, Shapiro AD. (1997). Human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) deficiency: characterization of a large kindred with a null mutation in the PAI-1 gene. *Blood*, 90(1):204-8.
- Fischer JA, Hueber AJ, Wilson S, Galm M, Baum W, Kitson C, Auer J, Lorenz SH, Moelleken J, Bader M, Tissot AC, Tan SL, Seeber S, Schett G. (2015). Combined Inhibition of Tumor Necrosis Factor α and Interleukin-17 As a Therapeutic Opportunity in Rheumatoid Arthritis: Development and Characterization of a Novel Bispecific Antibody. *Arthritis Rheumatol*, 67(1):51-62.
- Foekens JA, Peters HA, Look MP, Portengen H, Schmitt M, Kramer MD, Br nner N, J nicke F, Meijer-van Gelder ME, Henzen-Logmans SC, van Putten WL, Klijn JG. (2000).

- Francis CW. (2002). Plasminogen activator inhibitor-1 levels and polymorphisms. *Arch Pathol Lab Med*, 126 (11):1401-4.
- Galliciotti G, Sonderegger P. (2006). Neuroserpin. *Front Biosci*, 11:33-45.
- Ganu V, Goldberg R, Peppard J, Rediske J, Melton R, Hu SI, Wang W, Duvander C, Heinegård D. (1998). Inhibition of interleukin-1alpha-induced cartilage oligomeric matrix protein degradation in bovine articular cartilage by matrix metalloproteinase inhibitors: potential role for matrix metalloproteinases in the generation of cartilage oligomeric matrix protein fragments in arthritic synovial fluid. *Arthritis Rheum*, 41(12):2143-51.
- Gelderblom M, Neumann M, Ludewig P, Bernreuther C, Krasemann S, Arunachalam P, Gerloff C, Glatzel M, Magnus T. (2013). Deficiency in serine protease inhibitor neuroserpin exacerbates ischemic brain injury by increased postischemic inflammation. *PLoS One*, 8(5):e63118.
- Giannelli G, Erriquez R, Iannone F, Marinosci F, Lapadula G, Antonaci S. (2004). MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 22:335-8.
- Gibofsky A. (2012). Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Manag Care*, 18:S295-302.
- Gibofsky A. (2014). Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsis. *Am J Manag Care*, 20:s128-45.
- Goëb V, Jouen F, Gilbert D, Le Loët X, Tron F, Vittecoq O. (2009). Diagnostic and prognostic usefulness of antibodies to citrullinated peptides. *Joint Bone Spine*, 76(4):343-9.
- Gürol G, Ciftci IH, Harman H, Karakece E, Kamanli A, Tekeoglu I. (2015). Roles of claudin-5 and von Willebrand factor in patients with rheumatoid arthritis.

International Journal Of Clinical And Experimental Pathology, 8(2): 1979-1984.

GümüŖdiŖ G, DođanavŖargil E. (1999). Klinik Romatoloji. ISBN:975-483-397-4. 269-278.

Hatemi G, Yazıcı H. (2006). Romatoid Artrit Kliniği. Türkiye Klinikleri J Int Med Scı, 2:12-17.

Hemmings FJ, Farhan M, Rowland J, Banken L, Jain R. (2001). Tolerability and pharmacokinetics of the collagenase-selective inhibitor Trocade in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford), 40(5):537-43.

Hermans PWM, Jan AH. (2005). Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Gene Polymorphism and Sepsis. Clinical Infectious Diseases, 41:S453-8.

Hjeltnes G, Hollan I, Førre Ø, Wiik A, Mikkelsen K, Agewall S. (2011). Anti-CCP and RF IgM: predictors of impaired endothelial function in rheumatoid arthritis patients. Scand J Rheumatol, 40(6):422-7.

Infantino M, Manfredi M, Meacci F, Sarzi-Puttini P, Ricci C, Atzeni F, Benucci M. (2014). Anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor isotypes in the diagnosis of rheumatoid arthritis: an assessment of combined tests. Clin Chim Acta, 436:237-42.

Jonsson SW, Backman C, Johnson O, Karp K, Lundström E, Sundqvist KG, Dahlqvist SR. (2001). Increased prevalence of atherosclerosis in patients with medium term rheumatoid arthritis. J Rheumatol, 28(12):2597-602.

Kadayıfçı A, Karaaslan Y. (1998). İç Hastalıkları El Kitabı. Medikomat Basım Yayın San. Ve Tic. Ltd. Ŗti., Ankara, s.425-433.

- Kim KS, Lee YA, Choi HM, Yoo MC, Yang HI. (2012). Implication of MMP-9 and urokinase plasminogen activator (uPA) in the activation of pro-matrix metalloproteinase (MMP)-13. *Rheumatol Int*, 32(10):3069-75.
- Kim YH, Kwon HJ, Kim DS. (2012). Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)-dependent processing of β ig-h3 protein regulates cell migration, invasion, and adhesion. *J Biol Chem*, 287(46):38957-69.
- Kleinschnitz C, Blecharz K, Kahles T, Schwarz T, Kraft P, Göbel K, Meuth SG, Burek M, Thum T, Stoll G, Förster C. (2011). Glucocorticoid insensitivity at the hypoxic blood-brain barrier can be reversed by inhibition of the proteasome. *Stroke*, 42(4):1081-9.
- Klimek E, Skalska A, Kwaśny-Krochin B, Surdacki A, Sulicka J, Korkosz M, Fedak D, Kierzkowska I, Wizner B, Grodzicki TK. (2014). Differential associations of inflammatory and endothelial biomarkers with disease activity in rheumatoid arthritis of short duration. *Mediators Inflamm*, 2014:681635.
- Kocijan R, Harre U, Schett G. (2013). ACPA and bone loss in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*, 15(10):366.
- Korkosz M, Gąsowski J, Surdacki A, Leszczyński P, Pawlak-Buś K, Jeka S, Siedlar M, Grodzicki T. (2013). Disparate effects of anti-TNF- α therapies on measures of disease activity and mediators of endothelial damage in ankylosing spondylitis. *Pharmacol Rep*, 65(4):891-7.
- Kotani T, Takeuchi T, Takai S, Yoshida S, Hata K, Nagai K, Wakura D, Isoda K, Makino S, Hanafusa T. (2012). Serum levels of matrix metalloproteinase (MMP) 9, a risk factor for acute coronary syndrome, are reduced independently of serum MMP-3 by anti-TNF- α antibody (infliximab) therapy in patients with rheumatoid arthritis. *J Pharmacol Sci*, 120(1):50-3.

- Kothari P, Pestana R, Mesraoua R, Elchaki R, Khan KM, Dannenberg AJ, Falcone DJ. (2014). IL-6-mediated induction of matrix metalloproteinase-9 is modulated by JAK-dependent IL-10 expression in macrophages. *J Immunol*, 192(1):349-57.
- Kourilovitch M, Galarza-Maldonado C, Ortiz-Prado E. (2014). Diagnosis and classification of rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*, 48-49:26-30.
- Kowluru RA, Mohammad G, dos Santos JM, Zhong Q. (2011). Abrogation of MMP-9 gene protects against the development of retinopathy in diabetic mice by preventing mitochondrial damage. *Diabetes*, 60(11):3023-33.
- Krüger K. (2014). Diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis. *Dtsch Med Wochenschr*, 139(37):1823-34.
- Lakhan SE, Kirchgessner A, Tepper D, Leonard A. (2013). Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke. *Front Neurol*, 4:32.
- Lal-Nag M, Morin PJ. (2009). The claudins. *Genome Biol*. 2009;10(8):235.
- Lee WS, Lim JH, Sung MS, Lee EG, Oh YJ, Yoo WH. (2014). Ethyl acetate fraction from *Angelica sinensis* inhibits IL-1 β -induced rheumatoid synovial fibroblast proliferation and COX-2, PGE2, and MMPs production. *Biol Res*, 47(1):41.
- Li J, Guo Y, Holmdahl R, Ny T. (2005). Contrasting roles of plasminogen deficiency in different rheumatoid arthritis models. *Arthritis Rheum*, 52(8):2541-8.
- Li S, Yu Y, Koehn CD, Zhang Z, Su K. (2013). Galectins in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *J Clin Cell Immunol*, 4(5): 1000164.

- Li X, Iida M, Tada M, Watari A, Kawahigashi Y, Kimura Y, Yamashita T, Ishii-Watabe A, Uno T, Fukasawa M, Kuniyasu H, Yagi K, Kondoh M. (2014). Development of an anti-claudin-3 and -4 bispecific monoclonal antibody for cancer diagnosis and therapy. *J Pharmacol Exp Ther*, 351(1):206-13.
- Lipsky PE (2004). Romatoid Artrit. Harrison İç Hastalıklarının Prensipleri Türkçe.
- Lukes A, Mun-Bryce S, Lukes M, Rosenberg GA. (1999). Extracellular matrix degradation by metalloproteinases and central nervous system diseases. *Mol Neurobiol*, 19(3):267-84.
- Makrilakis K, Fragiadaki K, Smith J, Sfikakis PP, Kitis GD. (2015). Interrelated reduction of chemerin and plasminogen activator inhibitor-1 serum levels in rheumatoid arthritis after interleukin-6 receptor blockade. *Clin Rheumatol*, 34(3):419-27.
- McColl BW, Rothwell NJ, Allan SM. (2008). Systemic inflammation alters the kinetics of cerebrovascular tight junction disruption after experimental stroke in mice. *J Neurosci*, 28(38):9451-62.
- McEntegart A, Capell HA, Creran D, Rumley A, Woodward M, Lowe GD. (2001). Cardiovascular risk factors, including thrombotic variables, in a population with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 40(6):640-4.
- Micke P, Mattsson JS, Edlund K, Lohr M, Jirström K, Berglund A, Botling J, Rahnenfuehrer J, Marincevic M, Pontén F, Ekman S, Hengstler J, Wöll S, Sahin U, Türeci O. (2014). Aberrantly activated claudin 6 and 18.2 as potential therapy targets in non-small-cell lung cancer. *Int J Cancer*, 135(9):2206-14.

- Milner JM, Cawston TE. (2005). Matrix metalloproteinase knockout studies and the potential use of matrix metalloproteinase inhibitors in the rheumatic diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 4(3):363-75.
- Miranda E, Lomas DA. (2006). Neuroserpin: a serpin to think about. *Cell Mol Life Sci*, 63(6):709-22.
- Miyake H, Hara I, Yamanaka K, Gohji K, Arakawa S, Kamidono S. (1999). Elevation of serum levels of urokinase-type plasminogen activator and its receptor is associated with disease progression and prognosis in patients with prostate cancer. *Prostate*, 39(2):123-9.
- Moran EM, Mullan R, McCormick J, Connolly M, Sullivan O, Fitzgerald O, Bresnihan B, Veale DJ, Fearon U. (2009). Human rheumatoid arthritis tissue production of IL-17A drives matrix and cartilage degradation: synergy with tumour necrosis factor-alpha, Oncostatin M and response to biologic therapies. *Arthritis Res Ther*, 11(4):R113.
- Munuswamy-Ramanujam G, Dai E, Liu L, Shnabel M, Sun YM, Bartee M, Lomas DA, Lucas AR. (2010). Neuroserpin, a thrombolytic serine protease inhibitor (serpin), blocks transplant vasculopathy with associated modification of T-helper cell subsets. *Thromb Haemost*, 103(3):545-55.
- Nishioku T, Yamauchi A, Takata F, Watanabe T, Furusho K, Shuto H, Dohgu S, Kataoka Y. (2010). Disruption of the blood-brain barrier in collagen-induced arthritic mice. *Neurosci Lett*, 482(3):208-11.
- Ogata A, Hirano T, Hishitani Y, Tanaka T. (2012). Safety and efficacy of tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*, 5:27-42.

- Ohtsuki S, Sato S, Yamaguchi H, Kamoi M, Asashima T, Terasaki T. (2007). Exogenous expression of claudin-5 induces barrier properties in cultured rat brain capillary endothelial cells. *J Cell Physiol*, 210(1):81-6.
- Ossowski L. (1988). In vivo invasion of modified chorioallantoic membrane by tumor cells: the role of cell surface-bound urokinase. *J Cell Biol*, 107:2437-45.
- Ou Y, Li W, Li X, Lin Z, Li M. (2011). Sinomenine reduces invasion and migration ability in fibroblast-like synoviocytes cells co-cultured with activated human monocytic THP-1 cells by inhibiting the expression of MMP-2, MMP-9, CD147. *Rheumatol Int*, 31(11):1479-85.
- Ouban A, Ahmed AA. (2010). Claudins in human cancer: a review. *Histol Histopathol*, 25(1):83-90.
- Ovalle WK, Nahirney PC (2009). *Netter's Essential Histology*. Netter Temel Histoloji. Çeviren: Müftüoğlu H, Kaymaz F, Atilla P, Güneş Tıp Kitabevleri, s. 6.
- Pineda D, AmpurdanÉS C, Medina MG, Serratosa J, Tusell JM, Saura J, Planas AM, Navarro P. (2012). Tissue plasminogen activator induces microglial inflammation via a noncatalytic molecular mechanism involving activation of mitogen-activated protein kinases and Akt signaling pathways and AnnexinA2 and Galectin-1 receptors. *Glia*, 60(4):526-540.
- Protze J, Eichner M, Piontek A, Dinter S, Rossa J, Blecharz KG, Vajkoczy P, Piontek J, Krause G. (2015). Directed structural modification of *Clostridium perfringens* enterotoxin to enhance binding to claudin-5. *Cell Mol Life Sci*, 72(7), 1417-1432.

- Raghu H, Cruz C, Rewerts CL, Frederick MD, Thornton S, Mullins ES, Schoenecker JG, Degen JL, Flick MJ. (2014). Transglutaminase factor XIII promotes arthritis through mechanisms linked to inflammation and bone erosion. *Blood*, 08-594754.
- Rodríguez-González R, Millán M, Sobrino T, Miranda E, Brea D, de la Ossa NP, Blanco M, Perez J, Dorado L, Castellanos M, Lomas DA, Moro MA, Dávalos A, Castillo J. The natural tissue plasminogen activator inhibitor neuroserpin and acute ischaemic stroke outcome. (2011). *Thromb Haemost*, 105(3):421-9.
- Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. (2014). Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis*, 20(6):538-50.
- Sarkar A, Zhou C, Meklemburg R, Wintrode PL. (2011). Local conformational flexibility provides a basis for facile polymer formation in human neuroserpin. *Biophys J*, 101(7):1758-65.
- Sawdey MS, Loskutoff DJ. (1991). Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in vivo. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta. *J Clin Invest*, 88(4): 1346–1353.
- Saxne T, Lecander I, Geborek P. (1993). Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in synovial fluid: difference between inflammatory joint disorders and osteoarthritis. *J Rheumatol*, 20:91–6.
- Schett G, Gravallesse E. (2012). Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*, 8(11):656-64.
- Schneider M, Krüger K. (2013). Rheumatoid arthritis--early diagnosis and disease management. *Dtsch Arztebl Int*, 110(27-28):477-84.

- Schonbeck U, Mach F, Libby P. (1998). Generation of biologically active IL-1 β by matrix metalloproteinases: a novel caspase-1-independent pathway of IL-1 β processing. *J. Immunol*, 161, 3340–3346.
- Schrimpf SP, Bleiker AJ, Brecevic L, Kozlov SV, Berger P, Osterwalder T, Krueger SR, Schinzel A, Sonderegger P. (1997). Human neuroserpin (PI12): cDNA cloning and chromosomal localization to 3q26. *Genomics*, 40(1):55-62.
- Seegobin SD, Ma MH, Dahanayake C, Cope AP, Scott DL, Lewis CM, Scott IC. (2014). ACPA-positive and ACPA-negative rheumatoid arthritis differ in their requirements for combination DMARDs and corticosteroids: secondary analysis of a randomized controlled trial. *Arthritis Res Ther*, 16(1):R13.
- Shehwaro N, Langlois AL, Gueutin V, Gauthier M, Casenave M, Izzedine H. (2014). Doxycycline or how to create new with the old?. *Therapie*, 69(2):129-41.
- Shinde CG, Venkatesh MP, Kumar TM, Shivakumar HG. (2014). Methotrexate: A Gold Standard for Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 28(4):351-8.
- Siao CJ, Tsirka SE. (2002). Tissue plasminogen activator mediates microglial activation via its finger domain through annexin II. *J Neurosci*, 22:3352–3358.
- Slot O, Br nner N, Loch H, Oxholm P, Stephens RW. (1999). Soluble urokinase plasminogen activator receptor in plasma of patients with inflammatory rheumatic disorders: increased concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 58(8):488-92.

- Soydinç HO, Çamlıca H, DuranYıldız D, Sağlam, E K, Taş F, Yasasever V, Dalay N. (2006). Matriks metalloproteinazlar ve akciğer kanseri. *Türk Onkoloji Dergisi*, 21 (2): 53, 6.
- Spinelli FR, Metere A, Barbati C, Pierdominici M, Iannuccelli C, Lucchino B, Ciciarello F, Agati L, Valesini G, Di Franco M. (2013). Effect of therapeutic inhibition of TNF on circulating endothelial progenitor cells in patients with rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm*, 2013:537539.
- Stawarski M, Stefaniuk M, Wlodarczyk J. (2014). Matrix metalloproteinase-9 involvement in the structural plasticity of dendritic spines. *Front Neuroanat*, 8:68.
- Taneda S, Hudkins KL, Mühlfeld AS, Kowalewska J, Pippin JW, Shankland SJ, Alpers CE. (2008). Protease nexin-1, tPA, and PAI-1 are upregulated in cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*, 19(2):243-51.
- Tasliyurt T, Kisacik B, Kaya SU, Yildirim B, Pehlivan Y, Kutluturk F, Ozyurt H, Sahin S, Onat AM. (2013). The frequency of antibodies against cyclic citrullinated peptides and rheumatoid factor in healthy population: a field study of rheumatoid arthritis from northern Turkey. *Rheumatol Int*, 33(4):939-42.
- Thal SC, Luh C, Schaible EV, Timaru-Kast R, Hedrich J, Luhmann HJ, Engelhard K, Zehendner CM. (2012). Volatile anesthetics influence blood-brain barrier integrity by modulation of tight junction protein expression in traumatic brain injury. *PLoS One*, 7(12):e50752.
- Toldi G, Bekő G, Kádár G, Mácsai E, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. (2013). Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the

assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clin Chem Lab Med*, 51(2):327-32.

Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. (2008). Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther*, 117(2):244-79.

Tsang VW, Young D, During MJ, Birch NP. (2014). AAV-mediated overexpression of neuroserpin in the hippocampus decreases PSD-95 expression but does not affect hippocampal-dependent learning and memory. *PLoS One*, 9(3):e91050.

Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. (2002). Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 29(1):62-7.

Van Meijer M, Pannekoek H. (1995). Structure of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and its function in fibrinolysis: an update. *Fibrinolysis*, 9:263–276.

Van Venrooij WJ, van Beers JJ, Pruijn GJ. (2008). Anti-CCP Antibody, a Marker for the Early Detection of Rheumatoid Arthritis. *Ann N Y Acad Sci*, 1143:268-85.

Vassalli JD, Baccino D, Belin D. (1985). A cellular binding site for the Mr 55,000 form of the human plasminogen activator, urokinase. *J Cell Biol*, 100(1):86-92.

Verma A, Prasad KN, Nyati KK, Singh SK, Singh AK, Paliwal VK, Gupta RK. (2011). Association of MMP-2 and MMP-9 with clinical outcome of neurocysticercosis. *Parasitology*, 138(11):1423-8.

- Verslegers M, Lemmens K, Van Hove I, Moons L. Matrix metalloproteinase-2 and -9 as promising benefactors in development, plasticity and repair of the nervous system. *Prog Neurobiol*, 105:60-78.
- Vivien D, Gauberti M, Montagne A, Defer G, Touzé E. (2011). Impact of tissue plasminogen activator on the neurovascular unit: from clinical data to experimental evidence. *J Cereb Blood Flow Metab*, 31(11):2119-34.
- Wallberg-Jonsson S, Cvetkovic JT, Sundqvist KG, Lefvert AK, Rantapää-Dahlqvist S. (2002). Activation of the immune system and inflammatory activity in relation to markers of atherothrombotic disease and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 29(5):875-82.
- Wan S, Feng Z, Chen Z, Wang X, Cao Y, Shao Y, Jiang X. (2012). Neuroserpin upregulates in the early period of sustained spinal cord compression. *Clin Lab*, 58(9-10):891-6.
- Wang ZZ, Wang Y, Li JM, Mou FX, Wu H. (2013). Significance of serum MMP-3, TIMP-1, and monocyte CD147 in rheumatoid arthritis patients of damp-heat Bi-syndrome and of cold-damp Bi-syndrome. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 33(6):770-3.
- Wasserman AM. (2011). Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *Am Fam Physician*, 84(11):1245-52.
- Xue M, McKelvey K, Shen K, Minhas N, March L, Park SY, Jackson CJ. (2014). Endogenous MMP-9 and not MMP-2 promotes rheumatoid synovial fibroblast survival, inflammation and cartilage degradation. *Rheumatology (Oxford)*, 53(12):2270-9.
- Yanık B, Külcü DG. (2008). Romatoid Artrit'te Yeni Tanısal Otoantikörler. *Romatizma/Rheumatism*, 23(3).

Zhou M, Qin S, Chu Y, Wang F, Chen L, Lu Y. (2014). Immunolocalization of MMP-2 and MMP-9 in human rheumatoid synovium. *Int J Clin Exp Pathol*, 7(6):3048-56.

Zimowska M, Swierczynska M, Ciemerych MA. (2013). Nuclear MMP-9 role in the regulation of rat skeletal myoblasts proliferation. *Biol Cell*, 105(8):334-44.

EKLER

EK 1- Etik Kurul Onay Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/09/2014-11815



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 71522473/050.01.04/ 86
Konu : Girişimsel Olmayan Etik Kurul
Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Yrd.Doç.Dr. Gönül GÜROL
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji ABD

İlgi : 29.08.2014 tarihli 86 sayılı düzeltme başvurunuz

Destekleyicisi olduğunuz "Romatoid Artrit'de Neuroserpin'in Kan Beyin Bariyeri Fonksiyonlarına Etkisi " isimli çalışma ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen şekilde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Ali TAMER
Etik Kurulu Başkanı

Güvenli Elektronik
İmzalı Aslı İle Aynıdır.
30.09./2014

Zübeyde KAÇAL
Etik Kurul Sekr.

Evrakı Doğrulamak İçin : http://193.140.253.232/envision.Sorgula/Validate_Doc.aspx?V=BELMCO43

Fakülte Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Kocucuk Kampüsü, Kocucuk, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ađ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Sevil ARABACI TAMER

Doğum yeri ve tarihi: Adapazarı-28.08.1987

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu:

Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji A.D.

Tel: 0264 295 3139

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Moleküler Biyoloji A.D

Yüksek Lisans

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Bölümü

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

2011- Araştırma Görevlisi

IV- Mesleki Deneyimi

2011-2013 Araştırma Görevlisi Sakarya Üniversitesi/Biyoloji Bölümü

2013- Araştırma Görevlisi Sakarya Üniversitesi/Tıp Fakültesi/Fizyoloji A.D

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları: (Ulusal ya da uluslararası makale, bildiri, poster, kitap/kitap bölümü vb.)

Bildiriler:

Sevil ARABACI TAMER, Gönül GUROL, İbrahim TEKEOĞLU, Halil HARMAN, and İhsan Hakkı CİFTÇİ, “Is Neuroserpin a New Biomarker in Patient with Rheumatoid Arthritis?” International Conference on Medical Genetics, Cellular & Molecular Biology, Pharmaceutical and Food Sciences (GCMBPF-2015), İstanbul.

(Tam metin)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri