

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI



**ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA, VEGF, IL-6, TNF-ALFA,
KALLİSTATİN VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Suatnur ŞİK

Danışman

Doç. Dr. Serdar DOĞAN

Hatay – 2024

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA, VEGF, IL-6, TNF-ALFA,
KALLİSTATİN VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Suatnur ŞİK

Danışman

Doç. Dr. Serdar DOĞAN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
23.YL.09 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Hatay - 2024

Kabul ve Onay

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA, VEGF, IL-6, TNF-ALFA, KALLİSTATİN VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Suatnur ŞIK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı:

Üye:

Üye:

Bu tez, Enstitümüz Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

TEŞEKKÜR

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Biyokimya Anabilim Dalı yüksek lisans öğrenimime başladığım günden bu yana bilgi birikimi, etİge olan yaklaşımı, derslerde paylaştığı mesleki ve manevi deneyimleri, dinlemekten çok keyif duyduğum, beyin fırtınası yaptıran dersleri ile akademik ve sosyal her türlü desteğini hissettiren Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer hocam sayın Prof. Dr. Abdullah ARPACI'ya,

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren her konuda desteğini ve her zaman güven duyduğunu bildiğim, akademik seçimlerimde yanımda olduğunu, destek olduğunu tüm babacan tavrıyla hissettiren, zaman zaman kendimi kaybettiğimde her seferinde doğru yolu görmemi sağlayan, akademik çevredeki bilgi birikimi ve tecrübeleriyle zorlandığım zamanlarda ayağa kalkmama ve ayakta dik durmama vesile olan, tüm mesleki bilgi birikimini, deneysel bilgi birikimini her zaman paylaşan, çalışkanlığını ve disiplinini aşıl原因 çok sevgili, saygıdeğer tez danışman hocam sayın Doç. Dr. Serdar DOĞAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca derslerini dinlemekten keyif duyduğum ve farklı bakış açısı ile destek olan sayın hocam Prof. Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a,

Yüksek lisans tezimin istatistiksel kısmında emeğiyle destek olan, ders dönemimde dersleriyle, tez dönemimde istatistiksel bilgisi ve pratikliğiyle, bilgi paylaşımındaki sabrıyla örnek aldığım sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Hamdi OĞUZMAN'a,

Yüksek lisans tez çalışmamda birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum sayın Doç. Dr. Gezmiş KİMYON'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerini paylaşan, dersleriyle eğitime katkı sağlayan saygıdeğer Tıp Biyokimya Anabilim Dalı, Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı ve Tıp Biyoloji Anabilim Dalı hocalarıma ve eğitim sürecimde birlikte yol yürüdüğüm tüm dönem arkadaşlarıma,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olduğunu bildiğim, arkadaşlığıyla zor zamanlarımdaki sakinliği, desteği ve zaman zaman içinden çıkardığı abla gibi hissettiren haliyle saygı duyduğum ve çok miktarda sevgi beslediğim, kısa zamanda can dostum olan canım arkadaşım Ceylan ALPASLAN'a,

Yüksek lisans eğitimimin bir dönemini geçirdiğim Ankara Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyelerine, TÜBİTAK proje ekibinde yer almama izin veren, akademik bilgi ve birikimini, düşünme şeklini gelişmem amacıyla her zaman paylaştan Doç. Dr. Erkan TUNCAY'a, bu süreçte her zaman yanımda olduğunu bildiğim, desteğiyle gönlümde ayrı bir yeri olan laboratuvar çalışma arkadaşım olan çok sevgili Leila ARYAN'a,

Eğitim hayatım boyunca her zaman destek olan, ayağa kaldıran, yanımda olduğunu bildiğim, sevgiyle büyüdüğüm canım ailem babam Salih ŞIK, annem Emine ŞIK, kardeşlerim Senem ŞIK ve Halil Deniz ŞIK'a, zaman zaman kahrımı çeken ve her zaman desteğiyle yanımda olan canım dostlarıma, depremde kaybettiğim, gelişimimde fikirleriyle yer alan ve çok şeyim olan sevgili kuzenim Nihal BERBER'e,

Yüksek lisans eğitimime başlama ve sürdürme sürecimde çok büyük desteği olan çok değerli Çiğdem BULĞURCU TACİ'ye,

Ankara'ya alışma sürecimde tüm destekleriyle yanımda olan, parçası olmaktan mutluluk duyduğum Ankyra Doğa Sporları Spor Kulübü ailesine ve teknik destekleriyle tezime katkıda bulunan çok sevgili Muhammed Esat KÖKLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ÖZET	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Romatoid Artrit Tanımı.....	3
2.2. Romatoid Artrit Epidemiyolojisi	3
2.3. Romatoid Artrit Patogenezi.....	4
2.3.1. Sitokinlerin Rolü	7
2.3.1.1. İnterlökin-6.....	8
2.3.1.2. Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α).....	10
2.3.1.3. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....	11
2.3.2. Otoantikörlerin Rolü	11
2.4. Romatoid Artrit Hastalığı Tanı Kriterleri	12
2.5. Romatoid Artrit Bulguları	13
2.5.1. Eklem Bulguları	13
2.5.2. Sistemik Bulgular.....	14
2.5.3. Eklem Dışı Bulgular.....	14
2.5.4. Labortauvar Bulguları	15
2.6. Romatoid Artrit Hastalığının Prognozu	15
2.7. Romatoid Kaşeksi	16
2.8. Romatoid Artrit Hastalığının Tedavisi.....	17
2.9. Romatoid Artrit Hastalığının Beslenme Tedavisi	19
2.10. Romatoid Artrit ile Oksidatif Stres İlişkisi	20
2.11. Romatoid Artrit ile İnflamasyon İlişkisi	22
2.12. Kallistatin	23
2.12.1. Kallistatin Anjiyogenez İlişkisi.....	24
2.12.2. Kallistatin ile Apoptoz İlişkisi	26

2.12.3. Kallistatin İnflamasyon İlişkisi	27
2.12.4. Kallistatin ile Oksidatif Stres İlişkisi	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	30
3.2. Etik Kurul Onayı.....	30
3.3. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması.....	30
3.4. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	31
3.5. Numunelerin Çalışılması.....	31
3.5.1. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Ölçümü	31
3.5.2. Serum Total Oksidan Status (TOS) Ölçümü.....	32
3.5.3. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması	34
3.6. ELISA Yöntemi ile Ölçülen Parametreler	34
3.6.1. Serum Kallistatin Ölçümü.....	34
3.6.2. Serum Tümör Nekroz Faktörü-Alfa Ölçümü.....	35
3.6.3. Serum Interlökin-6 Ölçümü	37
3.6.4. Serum VEGF Ölçümü	38
3.7. Malondialdehit (MDA) Miktarının UV Spektrofotometre ile Tayini	40
3.8. İstatistiksel Analiz.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Çalışma Gruplarına Ait Demografik Verilerin Değerlendirilmesi.....	45
4.2. Çalışma Gruplarına Ait İnflamasyon İlişkili Test Sonuçları Değerlendirmesi.....	45
4.3. Romatoid Artrit Hastalarına Ait Klinik Verileri Sonuçlarının Değerlendirilmesi...	46
4.4. Çalışma Gruplarına Ait ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	47
4.5. Çalışma Gruplarına Ait Oksidatif Stres Parametreleri Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	48
4.6. Çalışma Gruplarında Ait Demografik Veriler, Klinik Veriler ile ELISA Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri	49
4.7. Çalışma Gruplarına Ait Demografik Veriler, Klinik Veriler ile Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri	52
4.8. Çalışma Gruplarında ELISA Parametreleri İle Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri.....	54
4.9. Çalışma Gruplarında Multinominal Regresyon Modeli Analizi.....	56

4.10. Çalışma Gruplarında Serum Kallistatinin Tek Değişkenli ve Çok Değişkenli Korelasyonları.....	57
4.11. Çalışma Gruplarında ROC Analizi	59
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ	68
7. KAYNAKÇA.....	69
EKLER.....	76
EK 1	76
ÖZGEÇMİŞ	77



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Romatoid Artrit patogenezi.....	5
Şekil 2.2 RA patogenezinde IL-6 farklılaşmaları.....	8
Şekil 2.3 IL-6'nın T hücresi farklılaşması ve efektör fonksiyonları üzerindeki fonksiyonları	8
Şekil 2.4 Romatoid artrit tedavi yöntemleri seçim diyagramı.....	19
Şekil 2.5 Romatoid Artrit ile oksidatif stres ilişkisi.....	22
7 Kallistatinin anjiyogenezdeki çift yönlü rolü.....	25
Şekil 2.7 Kallistatinin apoptoz çift yönlü rolü.....	26
Şekil 2.8 Kallistatinin inflamasyon çift yönlü rolü.....	28
Şekil 3.1 Serum TAS standart grafiği.....	32
Şekil 3.2 Serum TOS standart grafiği.....	33
Şekil 3.3 Serum Kallistatin standart grafiği.....	35
Şekil 3.4 Serum TNF- α standart grafiği.....	37
Şekil 3.5 Serum IL-6 standart grafiği.....	38
Şekil 3.6 Serum VEGF standart grafiği.....	40
Şekil 3.7 MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı.....	40
Şekil 3.8 MDA standart grafiği.....	43
Şekil 4.1 Çalışma gruplarında ROC analizi sonuçları.....	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. ACR/EULAR 2010 kriterleri.....	13
Çizelge 2.2. DAS28’de değerlendirilen eklemler.....	16
Çizelge 2.3. Romatoid kaşeksi için geliştirilen kriterler.....	17
Çizelge 4.1. Çalışma gruplarına ait demografik veriler.....	45
Çizelge 4.2. Çalışma gruplarına ait inflamasyon ilişkili test sonuçları.....	46
Çizelge 4.3. Romatoid Artrit hastalarına ait klinik verileri sonuçları.....	46
Çizelge 4.4. Çalışma gruplarına ait ELISA sonuçları.....	48
Çizelge 4.5. Çalışma gruplarına göre oksidatif stres parametrelerinin sonuçları.....	49
Çizelge 4.6. Çalışma gruplarına ait demografik veriler ve klinik verilerin ELISA ve oksidatif stres parametreleri ile korelasyonu.....	51
Çizelge 4.7. Çalışma gruplarına ait ELISA parametrelerinin, demografik, klinik veriler ve oksidatif stres parametreleri ile korelasyonu.....	53
Çizelge 4.8. Çalışma gruplarına ait oksidatif stres parametreleri ELISA parametre düzeylerinin demografik veriler, klinik veriler ve ile ilişkili korelasyon....	55
Çizelge 4.9. Çalışma gruplarında multinominal regresyon modeli analizi sonuçları.....	56
Çizelge 4.10. Çalışma gruplarında serum kallistatinin demografik veriler, klinik veriler, oksidatif stres belirteçleri ve inflamatuvar belirteçler ile tek değişkenli ve çok değişkenli korelasyonları.....	58
Çizelge 4.11. Hasta gruplarında ROC analizi sonuçları.....	60

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

19-OH-PGE: 19-hidroksil-prostaglandin E

ACR: Amerikan Romatoloji Derneği

Anti-CCP: Anti Sitrulline Edilmiş Protein (ACPA)

BKİ: Beden Kütle İndeksi

DAS28: Hastalık Aktivite Skoru 28

DMARD: Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaç

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

EPC: Endotelyal Progenitör Hücreler

ESH: Eritrosit Sedimentasyon Hızı

EULAR: Avrupa Romatizma Birliği

ELISA: Enzyme-Linked Immun Sorbent Assay

FcR: Fc Reseptör

FFM: Yağsız Kütle

FFMI: Yağsız Kütle İndeksi

HBYS: Hastane Bilgi Yönetim Sistemi

IBS: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

IFN- γ : Interferon-gama

IFNc: Interferon-c

IgG: Immünoglobulin G

IgM: Immünoglobulin M

IL-18: Interlökin-18

IL-1 β : Interlökin 1 β eta

IL-2: Interlökin 2

IL33: Interlökin-33

IL-6: Interlökin-6

IL-8: Interlökin-8

JAK: Janus kinaz

DCBP: Doku Kallikrein Bağlayıcı Protein

KR: Kompleman Reseptörü

MCP-1: Monosit Kemoatraktan Protein-1

MDA: Malondialdehit

MHC: Majör Doku Uygunluk Kompleksi

MKF: Metakarpofalangiyal

MMP: Matriks Metalloproteinazlar

MS: Multiple Skleroz

NO: Nitrik Oksit

NSAİİ: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar

NF- κ B: Nükleer Faktör Kappa B

OPG: Osteoprotegerin

OSI: Oksidatif Stres İndeksi

PGE: Prostaglandin E

PGE2: Prostaglandin E2

PİF: Proksimal İnterfalangiyal

RA: Romatoid Artrit

RANKL: Nükleer Faktör Kappa- β Reseptör Aktivatör Ligandı

RF: Romatoid Faktör

RK: Romatoid Kaşeksi

RNS: Reaktif Nitrik Oksit (Reactive Nitrogen Spicies)

ROS: Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Spicies)

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

TAS: Total Antioksidan Status

TF: Foliküler T

TGF- β : Transforme Edici Büyüme Faktörü- Beta

Th: Yardımcı T hücre

Th1: Yardımcı T1 hücre

Th17: Yardımcı T17 hücre

TLR: Toll-Benzeri Reseptörler

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa

TOS: Total Oksidan Status

Treg: Regülatör T Hücre

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ÖZET

Romatoid Artrit Hastalarında, VEGF, IL-6, TNF-Alfa, Kallistatin ve Oksidatif Stres Parametreleri Düzeylerinin İncelenmesi

Romatoid Artrit (RA), kronik ve ağrılı bir inflamatuvar artritir. Otoimmünite kaynaklı RA hastalığı, inflamasyon, oksidatif stres ve neovaskülarizasyon ilişkili bir patogeneze sahiptir. Neovaskülarizasyon ilişkili ve anjiyogeneze rolü olduğu bilinen kallistatinin RA hastalığının patofizyolojisinde etkili olacağı düşünülmüş ancak etki mekanizması henüz ortaya konmamıştır. Mevcut çalışmada amaç, serum Interlökin 6 (IL-6), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α), Kallistatin, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), Total Antioksidan Status (TAS), Total Oksidan Status (TOS), Malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesi ile bu parametrelerin hastalık şiddetiyle ve klinik parametrelerle olan ilişkisini incelemektir.

Çalışma grupları, DAS28 hastalık aktivite ölçeği skorlamasına göre belirlenmiş 25 remisyon RA hastası, düşük hastalık aktivitesi gösteren 25 RA hastası, orta-ağır hastalık aktivitesi gösteren 30 RA hastası olacak şekilde üç grup şeklinde oluşturuldu. Ayrıca hasta grupları ile yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı 25 birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Serum IL-6, TNF- α , kallistatin, VEGF düzeyleri ELISA yöntemiyle, serum TAS ve TOS düzeyleri kolorimetrik yöntemle ile çalışıldı. Oksidatif Stres İndeksi TOS/TAS*100 şeklinde hesaplandı. Serum MDA düzeyleri Hammode ve arkadaşlarının modifiye ettiği çift kaynatma esasına dayalı yöntem ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Veriler IBM SPSS versiyon 22.0 ile analiz edildi.

Hastalık şiddetine göre oluşturulan gruplarda, IL-6 ve TNF- α , kontrol grubuna kıyasla diğer tüm çalışma gruplarında ve IL-6 remisyon grubuna kıyasla orta-ağır gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek; kallistatin kontrol grubuna kıyasla düşük ve orta-ağır aktiviteli gruplarda ve remisyon grubuna kıyasla orta-ağır gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek; VEGF ise aktif hastalık grubu olan orta-ağır gruplarda diğer çalışma gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek; TOS ve OSI, kontrol grubuna kıyasla düşük aktiviteli gruplarda ve orta-ağır aktiviteli gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek; MDA düzeyleri ise orta-ağır gruplarda, diğer çalışma gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kallistatin ile IL-6, TNF- α , TOS, OSI, MDA ve rutin biyokimyasal markırlar olan C-reaktif Protein (CRP) ve sedimentasyon düzeyleri arasında düşük-orta düzeyde pozitif yönde korelasyon olduğu görülmüştür. RA hasta gruplarında yapılan ROC analizi için IL-6, TNF- α , TOS, OSI, MDA için eğri altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kallistatin için 53 kesim değerine göre duyarlılığı %81,8 ve özgüllüğü %80,3 olarak hesaplanmış ve EAA 0,801 olarak bulunmuştur.

Literatürde ilk defa RA hastalarında serum kallistatin düzeyleri ile proanjiyogenik bir markır olan VEGF, proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α , oksidatif stres parametreleri olan TAS, TOS ve OSI ile lipid peroksidasyon düzeyi göstergesi olan MDA düzeyleri çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlar ışığında kallistatinin RA hastalığı patogenezinde inflamatuvar ve oksidatif yollar aracılığı ile görev yapan bir belirteç olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Romatoid Artrit, inflamasyon, oksidatif stres, patogeneze

ABSTRACT

Examination of VEGF, IL-6, TNF-Alpha, Kallistatin and Oxidative Stress Parameters Levels in Rheumatoid Arthritis Patients

Rheumatoid Arthritis (RA) is a chronic and painful inflammatory arthritis. Autoimmunity-induced RA disease has a pathogenesis caused by oxidative stress and neovascularization. Kallistatin, which is known to play a role in neovascularization and angiogenesis, is thought to be effective in the pathophysiology of RA disease, but its effect temperatures have not yet been revealed. The current effective aim is to multiply the association of serum IL-6, TNF- α , kallistatin, VEGF, TAS, TOS, MDA with the banknotes of this money with currency exchange and clinical efficiency.

The study group was formed into three groups: 25 remission RA patients, 25 RA patients with low disease activity, and 30 RA patients with moderate-severe disease activity, determined according to the DAS28 possible activity performance score. In addition, 25 healthy people, age and gender compatible with the patient groups, were included in the care as a control group. Serum IL-6, TNF- α , kallistatin, VEGF levels were studied by ELISA method, and serum TAS and TOS levels were studied by colorimetric procedures. Oxidative Stress Index was calculated as $TOS/TAS \times 100$. Serum MDA levels were measured spectrophotometrically using the modified double-boiling method of Hammode et al. Data were analyzed with IBM SPSS version 22.0.

In groups formed according to disease severity, IL-6 and TNF- α were statistically significantly higher in all other study groups compared to the control group and IL-6 in the moderate-severe groups compared to the remission group; kallistatin was statistically significantly higher in the low and medium-heavy activity groups compared to the control group and in the medium-heavy groups compared to the remission group; VEGF was statistically significantly higher in the moderate-severe groups with active disease compared to other study groups; TOS and OSI were statistically significantly higher in low activity groups and moderate-heavy activity groups compared to the control group; MDA levels were found to be statistically significantly higher in the moderate-severe groups compared to the other study groups. Low to moderate positive aspects were clearly evident between kallistatin and IL-6, TNF- α , TOS, OSI, MDA, and routine biochemical markers CRP and sedimentation stains. For the ROC analysis performed in RA patient groups, the area under error for IL-6, TNF- α , TOS, OSI, and MDA is significantly different. For kallistatin, sensitivity was calculated as 81.8% and specificity was calculated as 80.3% according to the cut-off value of 53, and the AUC was found to be 0.801.

For the first time in the literature, it is seen in serum kallistatin levels in RA patients, as well as VEGF, which is a proangiogenic marker, IL-6 and TNF- α , which are pro-inflammatory cytokines, TAS, TOS and OSI, which are oxidative stress changes, and MDA, which is an indicator of lipid peroxidation levels.

The results obtained show that kallistatin is a marker that functions through inflammatory and oxidative pathways in the pathogenesis of RA disease.

Key words: Rheumatoid Arthritis, treatment, oxidative stress, pathogenesis

1. GİRİŞ

Romatoid Artrit (RA), kronik inflamasyon, eklem tutulumu ve eklem hasarıyla karakterize sık görülen otoimmün inflamatuvar artrittir (Smolen ve ark, 2017). RA prevalansı dünya genelinde %0,5-1 oranındadır. RA görülme sıklığının kadınlarda erkeklere kıyasla 2-5 kat yüksek olduğu bildirilmiştir (Alpizar-Rodríguez ve ark, 2017; Papadoianni ve Lomraou, 2023).

Romatoid Artrit patogenezi tam olarak açıklanamamış olup sinoviyum ve sinoviyal membranda inflamasyon ve oksidatif stres yolakları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu yolakların etkisiyle, proinflamatuvar sitokin salınımı gerçekleşmekte ve otoantikor üretimi ile ilişkili olarak otoimmün yanıt gelişmektedir (Aletaha ve Smolen, 2018). RA patogenezinde, erken dönemde sinoviyumdaki sıvı miktarında artış görülmekte; zamanla eklem boşluğunda inflamatuvar hücrelerin birikmesi sonucunda sıvı miktarı azalarak sinoviyum üzerinde kalınlaşma meydana gelerek pannus adı verilen yapı gelişmekte, kıkırdaklarda harabiyet ve eklemlerde bozukluk görülmektedir (Papadoianni ve Lomraou, 2023). Hastalık ilerledikçe, tutulan eklem sayısı ve sistemik komplikasyonlarda artış gözlenmektedir (Entezami ve ark, 2011; Papadoianni ve Lomraou, 2023).

Genetik ve çevresel risk faktörlerinin de otoimmün yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmekte ve birincil çevresel etmen olarak sigara gösterilmektedir (Majithia ve Geraci, 2007; Deane, 2018). Hastalık prognozu ile otoantikor pozitifliğinin ilişkili olduğu bilinmektedir (Van Beer ve ark, 2013; Brito ve ark, 2019). RA tanısı, 2010 yılında Amerikan Romatoloji Derneği (ACR)/ Avrupa Romatizma Birliği (EULAR)'nin birlikte geliştirmiş olduğu tanı kriterleri ile konabilmektedir. RA bulguları, seyri yavaş ve fark edilmesi zor şekilde başlamakta, hafif ateş ile birlikte geceden sabaha süren eklem sertliği ve şişliği olarak tanımlanmaktadır (Venables ve Maini, 2016).

Romatoid Artrit hastalarında oksidatif stresin, inflamasyon ve eklem harabiyeti ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Oksidatif stres, eklem dokularında hücrel harabiyete yol açarak hastalık şiddetinin ve inflamasyonun artışına neden olabilmektedir (Özgeçmen, 2007; Mititelu ve ark, 2020).

Kallistatin, aktif bölge ve heparin bağlama bölgesi olarak adlandırılan iki yapısal bölgeden oluşan, çift yönlü etkileri olduğu tespit edilen bir doku proteindir. Anjiyogenez,

inflamasyon, oksidatif stres ve apoptozda pleiotropik etkileri olduğu ortaya konmuş bir proteindir. Ayrıca kallistatin, serbest radikalleri temizleme yeteneği olduğu için antioksidan özellik göstermektedir (Chao ve ark, 2016). Literatürde bugüne kadar yapılmış olan çalışmalara bakıldığında kallistatinin RA patogenezindeki düzeyini araştıran sınırlı sayıda çalışma olduğu dikkati çekmiştir. Öte yandan RA patogenezindeki rolünü ve hangi yollar ile ilişkili olduğunu gösteren bir çalışma olmadığı görülmüştür.

Mevcut çalışmada amacımız, RA tanısıyla takip edilen ve hastalık aktivitesine göre gruplara ayrılan hastalarda serum kallistatin düzeyleri ile proanjiyogenik bir markır olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), proinflamatuvar sitokinler olan Interlökin 6 (IL-6) ve Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α), oksidatif stres parametreleri olan Total Antioksidan Status (TAS), Total Oksidan Status (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSI) ile lipid peroksidasyon düzeyi göstergesi olan Malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesi ve bu parametrelerin hastalık şiddetiyle ve klinik parametrelerle olan ilişkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Romatoid Artrit Tanımı

Romatoid Artrit; ağrılı sinoviyal inflamasyon, kemik erozyonları, immün sistem aktivasyonu ve otoantikorların varlığı ile karakterize, kronik otoimmün bir hastalıktır (Wells ve ark, 2020). Hastalık sürecinde, sinoviyum, kıkırdak ve kemik gibi bölgelerde bulunan otoantijenlere karşı antikorlar oluşmakta ve eklem yıkımı, fonksiyon kaybı gibi hasarlar meydana gelmektedir (Bodkhe ve ark, 2019). Eller ve ayaklardaki sinoviyal eklemler hastalıkta ilk etkilenen yapılardır. Hastalığın neden olduğu sistemik inflamasyon birçok organ sisteminde de hasar oluşumuna yol açabilmektedir (Gibofsky ve ark, 2012). RA hastalığı romatoid faktör (RF) ve anti sitrulline edilmiş protein (anti-CCP) varlığına göre seropozitif ve seronegatif olarak tanımlanan iki gruba ayrılmaktadır. Hasta olgularında, RF ve anti-CCP'nin ikisinin birden yüksek olması durumu seropozitif, RF ve anti-CCP'nin ikisinin birden negatif olarak bulunması ise seronegatif olarak tanımlanmaktadır (Bodkhe ve ark, 2019).

2.2. Romatoid Artrit Epidemiyolojisi

Romatoid Artrit, yaygın bir inflamatuvar artrit türüdür. 30-65 yaşları arasındaki bireylerde daha sık görülmektedir. Dünya genelinde yetişkin nüfusta %0,5-1 sıklıkla gözlemlenmektedir. Kırsal alana göre kentsel alandaki görülme sıklığı daha yüksektir. RA hastalığında cinsiyete bağlı görülme sıklığının erkek cinsiyete göre kadın cinsiyette 2-5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Aile öyküsünde pozitiflik bulunmasının, RA oluşma riskini 3-5 kat kadar arttırdığı bildirilmiştir. RA hastalığında genetik geçiş oranının, seropozitif RA olgularında %40-65, seronegatif RA olgularında ise %20 olduğu gösterilmiştir (Entezami, 2011; Smolen ve ark, 2017). Romatoid Artrit olguları otoantikor ile ilgili pozitiflik olmadan da gelişebilmektedir (Entezami, 2011).

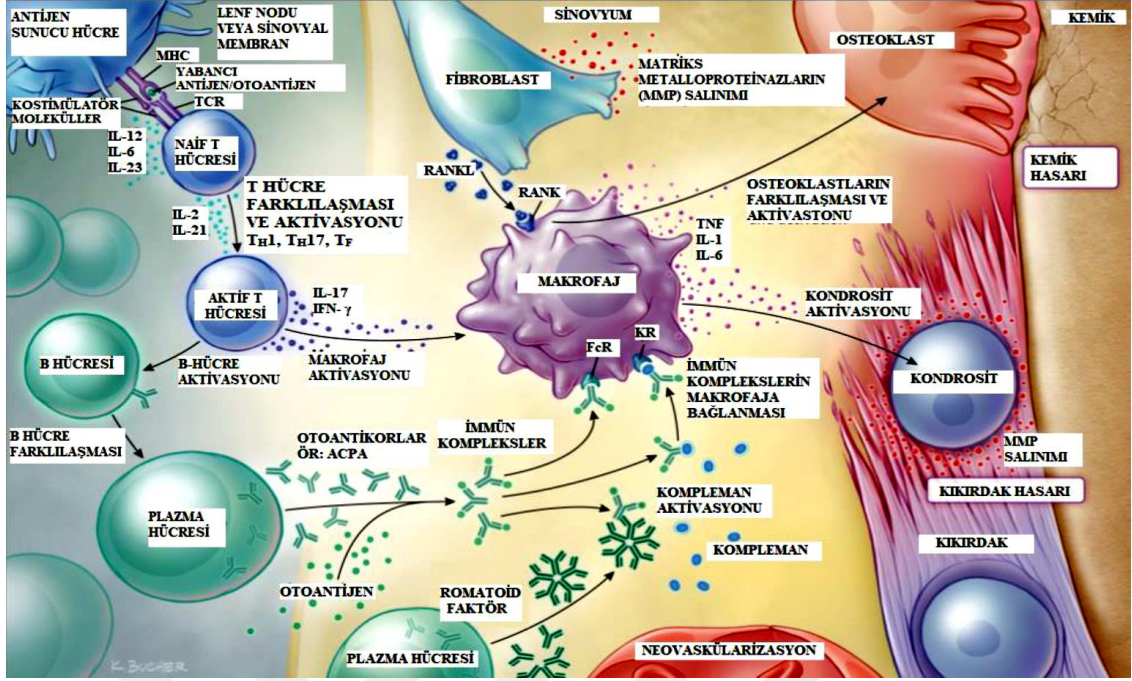
Otoimmüniteye bağlı olarak oluşan anti-CCP, RF gibi otoantikorlar, immün sistemin ve inflamatuvar yanıtın uyarılmasına neden olarak, hastalığın oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Boissier ve ark, 2020). Yapılan son çalışmalara göre, artrit başlangıcından birkaç yıl öncesinde bile otoantikorlar tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur (Maeda ve ark,

2019). Bu durum, hastalık ile ilgili immün yanıtın çok önceden başladığını göstermektedir (Scherer ve ark, 2020). Ayrıca hava kirliliği, toz, diyet (özellikle tuz alımı) ve enfeksiyonlar gibi çeşitli çevresel faktörler otoantikorların neden olduğu inflamatuvar yanıtı tetiklemektedir (Boissier ve ark, 2020). Seropozitif olgularda saptanan anti-CCP pozitifliği, radyolojik progresyonlarla ilişkilendirilmekte ve hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (He ve Wang, 2016).

2.3. Romatoid Artrit Patogenezi

Romatoid Artrit hastalığının patogenezinin, doğal ve adaptif yanıtlar arasında gerçekleşen etkileşimler sonucunda dendritik hücrelere antijen sunumu ile başladığı bilinmektedir. İmmün yanıtla bağlı olarak aktifleşen otoimmün T hücrelerinin, RF ve anti-CCP gibi otoantikorların da RA patogenezinin erken ve geç evrelerinde rol oynadığı bildirilmektedir (Terzioğlu, 2009; Dwivedi, 2017). Hastalığın nedeni kesin olarak belirlenememekle birlikte, özellikle son 20 yılda yapılan çalışmalar ve literatür katkıları sayesinde patogenezele ilgili edinilen bilgiler önemli ölçüde artmıştır (Smolen ve ark, 2017; Papadoianni ve Lomraou, 2023; Gao ve ark, 2024).

Romatoid Artrit, çok sayıda eklemden sinoviyal membranın inflamasyon oluşturmaya sonucunda, çoğunlukla el eklemlerinde deformiteye yol açan ve harabiyet oluşturan kronik seyirli otoimmün bir hastalıktır. RA patogenezinde, erken dönemde sinoviyumdaki sıvı miktarında artış görülür; zamanla inflamatuvar hücrelerin birikmesi sonucunda sıvı miktarı azalarak sinoviyum üzerinde kalınlaşma meydana gelir, bu kalınlaşma sonucunda pannus adı verilen yapı gelişmektedir. Pannus adlı yapıdan çeşitli enzimlerin sekresyonu gerçekleşmektedir. Bu sekresyon sonucunda kıkırdaklarda harabiyet ve eklemlerde bozukluk görülmektedir (Furst ve Emery, 2014; Papadoianni ve Lomraou, 2023). Hastalığın oluşturduğu harabiyet öncelikle kıkırdaktan başlayarak farklı derecelerde yıkıma neden olmaktadır. Pannus oluşumunun da etkisiyle eklem içi boşluğun daralması, son aşamada kemiklerde de harabiyetle sonuçlanır. Harabiyete neden olan bu inflamatuvar süreç vücutta bulunan her dokuyu etkileyebilmektedir (Firestein ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018; Alivernini ve ark, 2022).



Şekil 2.1 Romatoid Artrit patogenezi (Aletaha ve Smolen, 2018). MHC: Majör doku uygunluk kompleksi, TCR: T hücre reseptörü, IL-12: Interlökin 12, IL-6: Interlökin 6, IL-23: Interlökin 23, IL-2: Interlökin 2, IL-17: Interlökin 17, IFN- γ : İnterferon gama, KR: Kompleman reseptör, ACPA: Antisitrülline edilmiş protein, RANK: Nükleer faktör kappa β Reseptör, RANKL: Nükleer faktör kappa- β reseptör aktivatör ligandı, FcR: Fc reseptör, TNF: Tümör nekroz faktör, IL-1: Interlökin 1, MMP: Matriks metalloproteinaz.

Romatoid Artrit patogenezinde öncelikle endotelial hücrelerin aktivasyonu meydana gelmektedir (Aletaha ve Smolen, 2018). Endotelial hücre aktivasyonu sonrasında, patogenezden sorumlu diğer hücreler sinoviyal membran, sinoviyum ve kemik arasında geçiş sağlayarak patogeneze katkıda bulunur (Smolen ve ark, 2017; Papadoianni ve Lomraou, 2023).

Doğal bağışıklık sistemine ait dendritik hücrelerin yüzeylerinde bulunan Toll-benzeri reseptörler (TLR) gibi tanıma paternleri ile antijenleri tanıyarak aktivasyon gerçekleşmektedir. Sinoviyal membranda hastalık nedeniyle gelişen yabancı antijenler ve otoantijenler, antijen sunucu hücre tarafından kostimülatör moleküller aracılığıyla IL-6, IL-12, IL-23 salınır ve aynı zamanda antijen sunucu hücrede bulunan MHC ve T hücresinde bulunan T hücre reseptörü (TCR) uyumu sayesinde naif T hücresine aktarılmaktadır (Smolen ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018).

Antijen sunumu sonrasında, naif T hücresinden IL-2 ve IL-12 salınarak T hücre aktivasyonu gerçekleşerek aktif T hücresi oluşmakta ve aynı zamanda naif T hücresi Th1 ve

Th17 yardımcı hücrelerine farklılaşmaktadır. Aktif T hücresi B hücre aktivasyonu ile makrofaj aktivasyonundan sorumludur. Bu aktivasyon sonucunda B hücreleri plazma hücrelerine farklılaşmaktadır. Plazma hücreleri otoantikor salınımından sorumludur. Sinoviyal membrandan sinoviyuma anti-CCP gibi, sinoviyumdaki plazma hücrelerinden ise RF gibi otoantikorlar salınmakta, salınan bu otoantikorlar mevcut bulunan otoantijenlerle immüno kompleksler oluşturmaktadır. Sinoviyumda bulunan plazma hücrelerinden RF salındıktan sonra RF immüno komplekslerle birleşerek komplemanları aktive eder (Aletaha ve Smolen, 2018; Alvernini ve ark, 2022) (Şekil 2.1).

Komplemanlar makrofaj üzerindeki kompleman reseptörüne (KR) bağlanır. İmmüno kompleksler makrofaj üzerinde bulunan Fc reseptörüne ve KR bağlanarak sinoviyal membranda bulunan aktif T hücresinden IL-17 ve interferon gama (IFN- γ) gibi sitokinler salınır. Bu sitokinler sonradan sinoviyuma geçerek makrofajları aktive etmektedir. RA patogenezinde sinoviyal fibroblastlar, eklem kapsülünü içeren sinoviyal zarın iç yüzeyini kaplayan hücrelerdir. Bu hücrelerin RA patofizyolojisinde inflamatuvar sitokinlerin aktive edilmesi, anjiyogenez, eklem hasarı, immüno lojik yanıt modülasyonu gibi çeşitli etkileri bulunduğu bildirilmiştir (Gibofsky, 2012; Alvernini ve ark, 2022). Sinoviyum yüzeyinde yer alan sinoviyal fibroblastlar, Nükleer Faktör Kappa Ligandı Reseptör Aktivatörü (RANKL) salınımından sorumludur. RANKL makrofaj üzerinde bulunan Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) reseptörüne bağlanır. Proinflamatuvar sitokinlerin varlığında fibroblast hücreler tarafından RANKL eksprese edilmektedir. RANKL özellikle preosteoklast osteoklast dönüşümünde etkili olmakta ve buna bağlı olarak kemik yıkımını uyarmaktadır (O'brien ve ark, 2016; Smolen ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018). Makrofaj üzerindeki çeşitli reseptör bağlanmaları sonucunda makrofajlardan TNF, IL-1 ve IL-6 sitokinleri salınır. (Smolen ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018). Sinoviyumda bulunan fibroblastlar ile makrofaj benzeri hücrelerin çoğalması da etkili olmaktadır. Bu hücreler, prostaglandinler (PGE), matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi inflamatuvar mediyatörlerin salgılanması yolu ile kıkırdak ve kemik harabiyetinde etkin rol oynamaktadır (Smolen ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018; Gao ve ark, 2024).

Makrofajlar, kondrosit aktivasyonuna sebep olarak kıkırdak harabiyetinde etkili olan MMP gibi enzimlerin salınımına katkıda bulunmaktadır. Bunun sonucunda kıkırdak hasarı

hızla ilerleyerek eklemden harabiyet ortaya çıkmaktadır. (Aletaha ve Smolen, 2018) (Şekil 2.1).

2.3.1. Sitokinlerin Rolü

Romatoid Artrit hastalığının patogeneğinde sitokinlerin sinoviyal hücrelerden üretimi ve salınımı etkili bir rol oynamaktadır. Kemokinler, endotel hücre adezyon molekülleri ve sitokinlerin salınımı, ağrının tetiklenmesi ve T regülatör hücre (Treg) baskılanması gibi durumlarda rol alan başlıca sitokin TNF- α olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Lökositlerin lokal aktivasyonu ile otoantikor üretimi IL-6 tarafından tetiklenmekte; aynı zamanda lipid metabolizma düzensizlikleri, anemi ve bilişsel disfonksiyon gibi sistemik bozukluklara neden olabilmektedir. IL-1 ailesi sitokinleri olarak adlandırılan interlökin 1-alfa(IL-1 α), interlökin 1-beta (IL-1 β), interlökin 18 (IL-18) ve interlökin 33 (IL-33) gibi sitokinlerin ekspresyonu da RA'da gösterilmiştir. Çeşitli sitokinlerin ekspresyonu ile lökosit, endotel hücreleri, kondrositler ve osteoklastlar gibi hücrelerin aktivasyonunun arttığı gösterilmiştir (McInnes ve Schett, 2011; Jang ve ark, 2022; Gao ve ark, 2024).

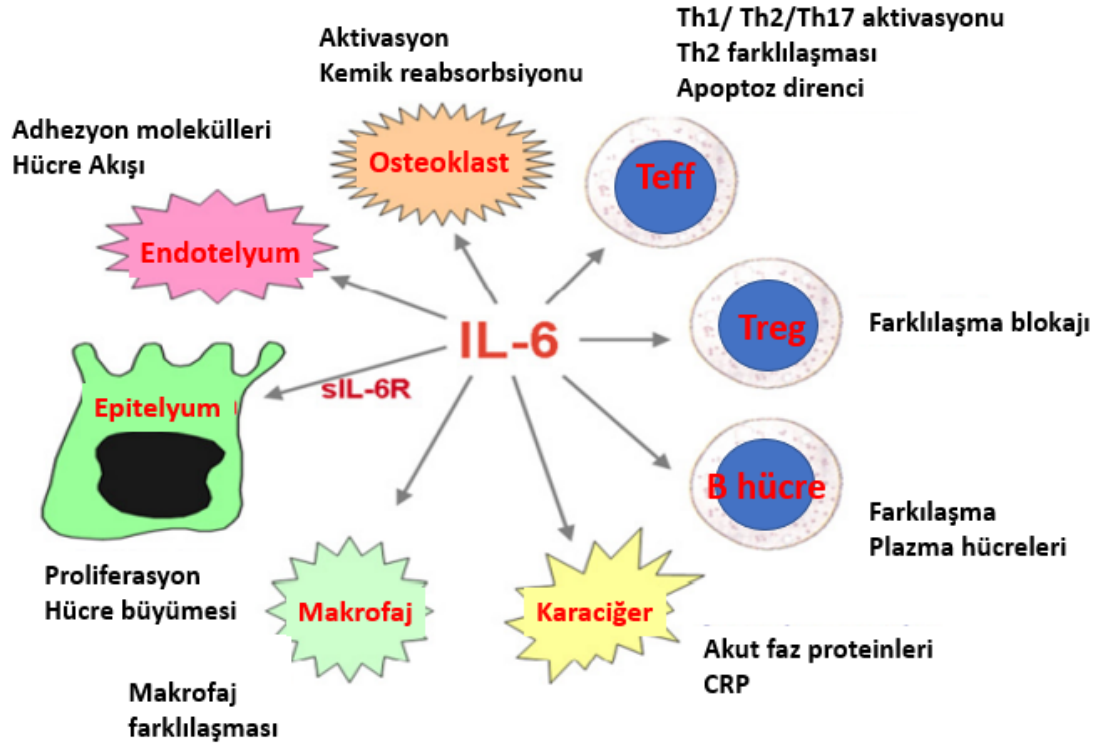
Romatoid Artrit hastalığında, yoğun immünolojik aktivite nedeniyle, sinoviyal dokuda çok yüksek miktarda T lenfosit, sinoviyal fibroblast, makrofaj infiltrasyonu görülmüştür. İmmünolojik aktivitenin yüksek oluşu, sitokin ve diğer bağışıklık faktörlerinin lokal ve sistemik seviyelerde de yükseklik göstermesi ile kronik inflamasyonla sonuçlanmaktadır. Mononükleer hücreler ile fibroblastlar tarafından salgılanan proinflamatuvar ve proliferatif sitokinler RA'daki patofizyolojiden sorumlu tutulmuştur. Geçmiş dönemde yapılmış çalışmalarda, RA'da inflamasyonun tetikleyicisi olan hücrelerin T hücreleri olduğu düşünülmüştür (Robinson ve ark, 2005). Yapılan yeni dönem çalışmalar sonucunda RA hastalarında IL-2, IFN- γ gibi T hücreler tarafından salınan sitokin seviyelerinin düşük seviyede seyrettiği; makrofaj ve fibroblastlar tarafından salınan sitokin seviyelerinin ise yüksek seviyede seyrettiği tespit edilmiştir. Çok sayıda kemokin seviyelerinin ve TNF- α , IL-1, IL-6, IL-15, IL-18, gibi sitokinlerin RA sinoviyumunda artış gösterdiği bildirilmiştir. Sinoviyum iç yüzeyinde bulunan fibroblast ve makrofaj benzeri sinoviyositler tarafından kronik inflamasyona neden olan faktörlerin üretildiği, sinoviyositlerin komşu hücrelerinden de farklı sitokin grupları, PGE'ler ve nitrik oksidin

(NO⁻) üretildiği bildirilmiştir. Sitokinler arası bağlantıların kırılmasını sağlayarak etki gösteren tedavi yöntemlerinden biri olan anti-TNF antikoru tedavilerinin RA mekanizmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Anti-TNF tedavilerinin, RA'da kemik ve kıkırdak harabiyetini yavaşlatıcı veya önleyici etkisi olduğu, Anti-TNF'nin bu etkisinde de osteoklastların inhibe edilmesinin etkili olduğu düşünülmektedir. Bir diğer yandan endotel hücre adezyon moleküllerinin arttığı, adezyon molekülleri başta olmak üzere, dolaşımda görevli hücrelerin salgıladığı kemokin reseptörlerinin sinoviyumda biriktiği saptanmıştır. Sitokin inhibisyonunun etkisinin anlaşılabilmesi için sitokin inhibitörleriyle yapılan çalışmaların terapötik etkili olduğu gösterildiğinden kronik inflamasyondaki rolünün netleştiği düşünülmektedir (Firestein, 2003; Miossec, 2003; Smolen ve ark, 2017; Aletaha ve Smolen, 2018; Jang ve ark, 2022; Gao ve ark, 2024).

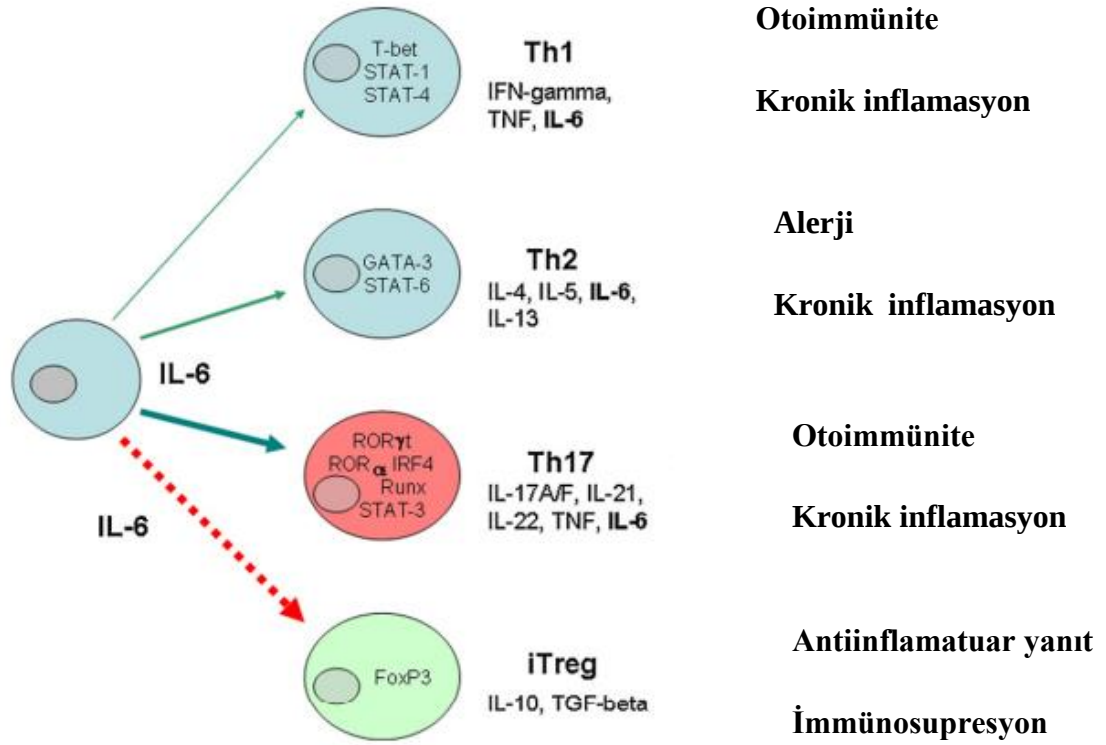
2.3.1.1. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6), homeostatik dengenin korunmasına yönelik ifade edilen bir sitokindir. Homeostaz, enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları sebebiyle bozulduğunda, IL-6 üretilerek akut faz ve bağışıklık aktivasyonunda rol oynayarak stres anında savunma katkısında bulunmaktadır. Buna karşılık IL-6'nın düzensiz, aşırı ve kronik sentezi, akut sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve kronik immün aracılı hastalıklar üzerinde patolojik etkiye neden olmaktadır (Srirangan 2010; Tanaka ve ark, 2018).

Romatoid Artrit hastalığında, yapılan çalışmalarda serumda ve sinoviyal sıvıda IL-6 üretiminde artış gösterilmiştir. Bu artış, RA patogenezinde önemli role sahiptir. IL-6, T hücrelerinin Th1, Th2, Th17 ve Treg hücrelerine farklılaşmasında etkilidir. Bu farklılaşma sonucunda otoimmün cevap artışı, alerjik yanıt, kronik inflamasyon, immünoşüpresyon ve antiinflamatuvar yanıt gibi çeşitli immünolojik tepkilere yol açmaktadır (Şekil 2.2) (Steinman, 2007; Neurath ve ark, 2011; Rose-John ve ark, 2023). RA'da, IL-6'nın etkisiyle Th1 ve Th17 hücrelerinin düzeyindeki artış, otoimmün yanıtı ve kronik inflamasyonu artırarak hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Th17 hücreleri ise inflamatuvar yanıtları tetikleyerek kronik inflamasyonun gelişimine katkıda bulunurlar (Şekil 2.3) (Yue ve ark, 2010; Neurath ve ark, 2011; Rose-John ve ark, 2023).



Şekil 2.2 RA patogeneğinde IL-6 farklılaşmaları (Neurath ve ark, 2011). CRP: C-Reaktif protein, IL-6: Interlökin 6, MP: Makrofaj, sIL-6R: Çözünür Interlökin-6 reseptörü, Teff: Efektör T hücresi, Treg: Regülatör T hücresi, Th1: Yardımcı T1 hücresi, Th2: Yardımcı T2 hücresi, Th17: Yardımcı T17 hücresi.



Şekil 2.3 IL-6'nın T hücresi farklılaşması ve efektör fonksiyonları üzerindeki fonksiyonları (Neurath ve ark, 2011). Th1: Yardımcı T1 hücresi, IFN: Interferon, TNF: Tümör nekrozis faktör, Th2: Yardımcı T2 hücresi, IL-4: Interlökin 4, IL-5: Interlökin 5, IL-6: Interlökin 6, IL-13: Interlökin13, Th17: Yardımcı T17 hücresi, IL17: Interlökin 17, IL-21: Interlökin 21, IL-22: Interlökin 22, Treg: Regülatör T hücresi, IL-10: Interlökin 10, TGF: Tümör büyüme faktörü.

2.3.1.2. Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α)

Tümör nekroz faktör-alfa, proinflamatuvar bir sitokindir ve RA patogenezinde etkili olduğu bildirilmiştir. TNF- α , immün sistem yanıtında yer alarak inflamasyon ve dokuların hasar görmesi sürecini tetiklemektedir. RA'da, sinoviyum adı verilen eklem zarında inflamatuvar süreçlerin başlamasıyla birlikte, çeşitli immün hücreler ve sitokinler aktive olur. TNF- α , çeşitli hücre tipleri tarafından salınabilir, ancak yoğun olarak makrofajlar ve T lenfositleri tarafından üretilir (Jang ve ark, 2021; Wang ve ark, 2023). TNF- α , RA'da eklemdaki inflamasyon sürecini artırarak sinoviyumun kalınlaşmasına ve eklem kapsülünün hasarına neden olmakta, osteoklast aktivasyonunu artırarak kemik yıkımını teşvik edebilmekte; sinoviyumda damar geçirgenliğini artırarak inflamasyonun yayılmasına katkıda bulunabilmektedir (Hirayama ve ark, 2002; Jung ve ark, 2019). TNF- α inhibitörleri, RA tedavisinde kullanılan önemli ilaç sınıflarından biridir. Bu ilaçlar, TNF- α 'nın etkilerini

bloke ederek inflamasyonu azaltarak eklem hasarını önler ve böylece hastalığın semptomlarını iyileştirmektedir (Demirel ve Kınap, 2008, Jang ve ark, 2021).

2.3.1.3. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü, yeni damar oluşumuna ve mevcut damarların genişlemesine katkıda bulunan önemli bir protein ailesidir (Kim ve ark, 2015). VEGF, endotel hücreleri, fibroblastlar, T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen en güçlü anjiyogenik faktörlerden biridir (Yoo ve ark, 2008; Boldeanu ve ark, 2023). Özellikle yara iyileşmesi, doku yenilenmesi, embriyonik gelişim gibi doğal süreçlerde olduğu kadar kanser ve kronik inflamatuvar gibi çeşitli hastalık süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. VEGF tarafından indüklenen anjiyogenezin, RA'nın kaskad düzenlenmesinde ve ayrıca pannus oluşturmada önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Zhang ve ark, 2024). Anjiyogenez, sinovitin devam etmesi ve ilerlemesinde büyük öneme sahiptir. Bu durum, RA'nın sonraki aşamalarında kıkırdak ve kemik yıkımına katkıda bulunan sinoviyal proliferasyonun artışına sebep olmaktadır (Kim ve ark, 2015; Boldeanu ve ark, 2023).

Yapılan son çalışmalar, VEGF'nin hem kendisi hem de reseptörlerini inhibe eden anti-VEGF tedavileri RA hastaları için etkili bir tedavi haline gelebileceğini göstermektedir (Choi ve ark, 2009; Kim ve ark, 2015). Ancak anti-VEGF antikorlarının etkinliği, TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar faktörler tarafından VEGF üretiminin sürekli olarak uyarılması nedeniyle önemli ölçüde engellenmektedir. Bu nedenle, TNF- α ve VEGF faktörlerinin hedeflenmesi ile anjiyogenez ve sinoviyal inflamasyonun blokajının beraber yapılmasının, RA'nın tedavisine katkıda bulunan yeni bir strateji olabileceği dile getirilmiştir (Zhang ve ark, 2024).

2.3.2. Otoantikorların Rolü

Romatoid Artrit, otoimmün bir hastalık olup, bağışıklık sisteminin kendi dokularına saldırmasıyla karakterizedir. Otoantikorların, RA hastalığının patofizyolojisinde etkili rol oynadığı gösterilmiştir. RA'da etkili otoantikorlar, RF ve anti-CCP antikorlarıdır. İlgili otoantikorlar, hastalığın başlangıcından önce saptanabilmekte, otoantikor varlığı hastalığın progresyonunda belirleyici olabilmektedir (Brito ve ark, 2019).

Romatoid faktör, immünoglobulin moleküllerine karşı üretilen otoantikorlardır. Immünoglobulin M (IgM) sınıfına ait RF, Immünoglobulin G (IgG)'ye karşı reaksiyona girer ve immün komplekslerin oluşumuna katkıda bulunur. Bu immün kompleksler, sinoviyumda ve diğer dokularda inflamasyona neden olarak hastalık semptomlarını artırabilmektedir. RF, RA tanısı için kullanılan bir belirteçtir ancak RA gelişmiş olgularda bulunmayabilmekte diğer otoimmün hastalıklarda da ortaya çıkabilmektedir. Anti-CCP antikorları ise sitriline edilmiş proteinlere karşı üretilen otoantikorlardır. Bu antikorlar, sinoviyal dokuda inflamasyonu artıran sitriline edilmiş proteinlere bağlanarak sinoviyal hücrelerin aktivasyonunu tetikleyebilmektedir. Anti-CCP antikorlarının varlığı, RA'nın şiddetini ve prognozunu belirlemede önemli bir belirteçtir (Van Beer ve ark, 2013; de Brito ve ark, 2019).

Otoantikorlar, RA'nın patofizyolojisi üzerinde çeşitli etkileri olan bir dizi mekanizma aracılığıyla hastalığın gelişimine katkıda bulunur. Bunlar arasında, otoantikorların immün komplekslerin oluşumuna neden olarak inflamasyonu tetiklemesi, sinoviyal hücrelerin aktivasyonunu artırması ve eklem hasarına yol açması gibi etkiler bulunmaktadır (Klareskog ve ark, 2015).

2.4. Romatoid Artrit Hastalığı Tanı Kriterleri

Romatoid Artrit tanısını erken dönemde teşhis edip, tedavi etmek amacıyla, ACR ile EULAR ortaklığında 2010 yılında hazırlanan tanı kriterleri kullanılmaktadır. Belirtilen tanı kriterleri ile en az 1 eklemde sinovit bulunması; sinoviti daha iyi açıklayan başka bir tanı olmaması durumunda ise tanı kriterlerinin puantajı üzerinden 6 ve üzeri puan saptanmasıyla RA tanısı kesin olarak konabilmektedir. Hastalığın tanı ve tedavisini erken sağlamak, komplikasyonları önlenmek amacıyla hazırlanan tanı kriterleri kullanıldığından, eklem erozyonları tanı kriteri arasında bulunmamaktadır (Aletaha ve ark, 2010; Mohammed ve Bhutta, 2020).

Çizelge 2.1 ACR/EULAR 2010 kriterleri (Aletaha ve ark, 2010)

Eklem Tutulumu	Puan Değeri
1 büyük eklem	0 puan
2-10 büyük eklem	1 puan
1-3 küçük eklem (büyük eklem tutulumu ile birlikte veya tek başına)	2 puan
4-10 küçük eklem (büyük eklem tutulumu ile birlikte veya tek başına)	3 puan
>10 eklem (en az 1'i küçük eklem olmalı)	5 puan
Serolojik Tetkikler (en az 1 test sonucu olmalı)	
RF ve ACPA negatifliği	0 puan
RF veya ACPA düşük pozitifliği	2 puan
RF veya ACPA yüksek pozitifliği	3 puan
Akut Faz Reaktanları (en az 1 test sonucu olmalı)	
Normal CRP ve ESH	0 puan
Anormal CRP veya anormal ESH	1 puan
Semptomların Süresi	
<6 hafta	0 puan
≥6 hafta	1 puan

ACR: Amerikan Romatoloji Derneği, EULAR: Avrupa Romatizma Birliği, RF: Romatoid faktör, ACPA: Anti-sitrülline edilmiş protein (CCP), CRP: C-reaktif protein, ESH: Eritrosit sedimantasyon hızı.

2.5. Romatoid Artrit Bulguları

Romatoid Artrit, yavaş ve fark edilmesi zor bir seyirle başlayan, zamanla hafif ateşin de eşlik ettiği gece başlayıp sabah devam eden eklem sertleşmesi ve şişliği olarak tanımlanabilmektedir. Muayene bulgularında sıklıkla eklem yan kaslarında atrofiye bağlı şişlik ile temas sonucunda hasta tarafından kasta hassasiyet hissedilmesi ve sıcaklık bulunmaktadır. Genel bulgular ile birlikte halsizlik, yorgunluk, ağırlık kaybı ve anoreksiya gibi bulgular eşlik edebilmektedir. Hastalık seyrinin artışı ile tutulan eklem sayısı ve sistemik komplikasyon görülme sıklığında artış bildirilmektedir (Boz ve ark, 2006; Venables ve Maini, 2016; Mohammed ve Bhutta, 2020).

2.5.1. Eklem Bulguları

Romatoid Artrit eklem bulguları, genelde sinovit ve sinoviyal proliferasyonun bir sonucudur. RA, metakarpofalangiyal (MKF), proksimal interfalangiyal (PİF) gibi küçük eklemler ile el bilek eklemlerinde simetrik bir tutulumu neden olmaktadır. Eklem tutulumu;

eklemlerde hassasiyet, şişlik oluşumu ve ısı artışı ile karakterizedir, kızarıklık ise olgularda nadiren görülmektedir. Tutulum gerçekleşmiş olan eklemlerde öncelikli bulgu ağrı olarak görülmekte, şişlik ağrıdan daha sonra gelişerek ağrıya zamanla eşlik edebilmektedir. Sinoviyal zarın tek veya çift katlı yapısı, tam olarak nedeni bilinmeyen bir antijene karşı inflamatuvar gelişen yanıtın bir sonucu olarak kalınlaşma eğilimindedir. Bu kalınlaşma zaman içinde pannus adlı inflamatuvar yapıya dönüşmektedir. Oluşan pannus; eklem ve kıkırdak dokularında yüzeysel başlayan ve gelişen erozyon ile yıkıcı harabiyete neden olmaktadır. Hastalık progresyonunda, doğru bir tedavi yöntemi uygulanamadığında eklem ve kıkırdaklarda gelişen tutulum zamanla, ciddi seyirli deformitelere dönüşebilmektedir (Mohammed ve Bhutta, 2020; Deniz ve ark, 2021).

2.5.2. Sistemik Bulgular

Romatoid Artrit, artmış kardiyovasküler hastalık riskiyle ilişkilendirilmiştir. Kardiyovasküler hastalık riskindeki artış; miyokard infarktüsü, serebrovasküler olaylar ve kalp yetmezliği gibi sistemik komplikasyonlara yol açabilmektedir. İnflamatuvar süreçler, endotel aktivasyonunu artırarak akut faz reaktanlarının seviyesini yükseltmekte, bu artış ile birlikte dolaşımdaki lipid profillerinde değişikliklere neden olarak kardiyovasküler komplikasyon riskini artırabilmektedir (Gök ve ark, 2016; Wu ve ark, 2022). RA'da sitokinlerin varlığı, sitokinlerin artmış salınımı, kas ve yağ dokularının insüline dirençli hale gelmesine yol açarak metabolik sendroma neden olabilmektedir. İnflamasyon gelişimi ise beyin fonksiyonlarını etkileyerek yorgunluk, halsizlik ve bilişsel işlevde azalmaya; karaciğeri etkileyerek yüksek akut faz yanıtı ve kronik hastalık anemisine; akciğerleri etkileyerek inflamatuvar ve fibrotik hastalıklara; ekzokrin bezleri etkileyerek sekonder Sjögren sendromuna; kasları etkileyerek sarkopeniye ve kemikleri etkileyerek osteoporoza neden olabilmektedir (Wilson ve ark, 2004; Gök ve ark, 2016; Wu ve ark, 2022).

2.5.3. Eklem Dışı Bulgular

Romatoid Artrit sistemik bir hastalık olduğundan, uzun süreli ve şiddetli seyreden hastalıkta, ciddi olabilen eklem dışı belirtilere neden olabilmektedir. Bu belirtiler arasında yorgunluk, anemi, iyi huylu romatizmal nodüller, ağırlık kaybı, yeme bozukluklarına bağlı

anoreksiya, organ tutulumları ve inflamasyona bağlı gelişen komplikasyonlar bulunmaktadır (Boz ve ark, 2006; Figus ve ark, 2021).

2.5.4. Labortauvar Bulguları

Romatoid Artrit hastalığının aktivitesini değerlendirmede laboratuvar parametreleri kullanılmaktadır. Hastalığın alevlendiği dönemlerde, C reaktif protein (CRP) veya eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) gibi akut faz reaktanlarında artışlar gözlemlenebilir. RF, anti-CCP antikorları ve serum antinükleer antikorlar (ANA) gibi otoantikorlar, RA tanısını doğrulamak ve sistemik otoimmün romatizmal hastalıkların tanı ve takibinde kullanılan yaygın laboratuvar araçlarıdır (Brzustewicz ve ark, 2017; Mohammed ve Bhutta, 2020).

2.6. Romatoid Artrit Hastalığının Prognozu

Romatoid Artrit prognozu, hastadan hastaya farklılık göstermekle birlikte, hastalığın ilk iki yıllık süreçte hızlı bir seyirle eklem harabiyeti oluşturduğu bildirilmektedir. Laboratuvar parametrelerinden CRP değerinin sürekli olarak yüksek seyretmesi kötü prognostik bir faktör olarak tanımlanmaktadır. RF ve anti-CCP otoantikorlarından ikisinin birlikte veya ayrı ayrı pozitifliğinin bulunması erken seyirli erozyon gelişimi ile ilişkilendirilmekte ve hastalığın prognozu için önemli olduğu belirtilmektedir (Can ve ark, 2008). Anti-CCP pozitifliği kötü prognoz göstermekte olup anti-CCP negatif olan hastalarda hastalık prognozu daha iyi seyirli prognoza sahiptir (McInnes ve ark, 2011; Scherer ve ark, 2020). Hastalık prognozu cinsiyet ile birlikte değerlendirildiğinde kadın cinsiyete sahip hastalarda RA seyri daha ciddi olmakta, erkek cinsiyete sahip hastalara kıyasla daha düşük remisyon oranları bildirilmektedir. Yaşa bağlı progresyon değerlendirilmesi yapıldığında, elli yaşın üzeri hastalarda prognozun kötü seyirli olduğu bildirilmiştir. Ekstraartiküler tutulum varlığı da prognoz ile ilişkilendirilmektedir (Günendi ve Can 2008; Scherer ve ark, 2020; Mohammed ve Bhutta, 2020).

Hastalık prognozu, hastalığın seyrinin ciddiyeti ile tedavinin hastadaki etkisine göre değişiklik göstermektedir. Tedavinin etkinliği hastalığın remisyon fazında seyretmesi ile ilişkilendirilmektedir. Hastalık takibi süresince, hastalık aktive düzeyi parametreleri değerlendirilmektedir. Bu değerlendirme kriterlerine göre hastalık aktivitesi belirlenmekte;

remisyon, düşük, orta, yüksek olarak adlandırılarak sınıflandırılmaktadır. Tedavi etkinliğinin beklenen şekilde, iyi seyirli olarak değerlendirildiği remisyon fazında, eklem inflamasyonunun önemli belirti ve semptomlarının olmaması beklenmektedir. Tedavi uygulanmayan hastaların remisyonu %20 ve altı oranlarda gösterilmişken, tedavinin etkinliğinin başarılı ve devamlı olarak uygulandığı olgularda yaklaşık %75'lik oranda remisyon veya düşük hastalık aktivitesi bildirilmektedir (Cantaert ve ark, 2009; Hennessey ve ark, 2018).

Hastalığın aktivite düzeyi; hastalık aktivite skoru 28 (Disease Activity Score 28-DAS28), basitleştirilmiş hastalık aktivite indeksi, klinik hastalık aktivite indeksi gibi farklı skorlamalar kullanılarak değerlendirilmektedir (Hennessey ve ark, 2018).

Çizelge 2.2 DAS28'de değerlendirilen eklemler (Hennessey ve ark, 2018)

Eklem Adı	Sayısı
Omuz	2
Dirsek	2
El Bileği	2
Diz	2
Metakarpofalangeal	10
Proksimal interfalangeal	10
Toplam Eklem Sayısı	28

2.7. Romatoid Kaşeksi

Romatoid Artrit, kronik inflamasyon ile karakterize NF- κ B yolunun aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir. RA hastalarında kronik inflamasyon maruziyeti nedeniyle vücut kompozisyonunda bozulmalar gerçekleşmekte; buna bağlı olarak NF- κ B yolağı aktifleştirilmekte ve bu yolak ile yağsız dokuda bozulma kaynaklı gerçekleşen metabolik değişiklikler tetiklenmektedir. Eklem harabiyeti ile ilişkilendirilen TNF- α ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler, enerji ve protein metabolizmasını etkileyebilmekte; kas kaybına neden olan hipermetabolizma ile ilişkilendirilebilecekleri düşünülmektedir. Pasif yaşam tarzı ile hastalarda vücut yağ oranının artması, hipermetabolizma kaynaklı kas kütlelerinde azalma 'Romatoid Kaşeksi' veya 'Romatoid Kaşektik Obezite' olarak adlandırılmaktadır (Stavropoulos-Kalinoglou ve ark, 2011; Ångström ve ark, 2020).

Çizelge 2.3 Romatoid kaşeksi için geliştirilen kriterler (Engvall ve ark, 2008; Elkan ve ark, 2009)

Romatoid Kaşeksi	
Altta yatan kronik hastalık	Romatoid Artrit
Vücut ağırlığı/BKİ	Sabit veya artmış vücut ağırlığı/BKİ
Vücut kompozisyonu	FFMI < 10. Persentil FMI > 25. Persentil
	FFMI < 25. Persentil FMI > 50. Persentil
Sitokinlerin rolü	İnflamatuvar sitokinlerin (TNF- α ve IL-6) yüksekliği
	Yağ kütlesi sabit veya artmış yağ kütlesi

BKİ: Beden kütle indeksi, FFM: Yağsız kütle, FFMI: Yağsız kütle indeksi.

2.8. Romatoid Artrit Hastalığının Tedavisi

Romatoid Artrit, kompleks bir otoimmün hastalıktır; inflamasyonu azaltmak, hastalığın ilerlemesini durdurmak ve eklem harabiyetini önlemek için etkili bir tedavi stratejisi geliştirilmesi gerekmektedir. Buna bağlı olarak uygulanması beklenen ilaç tedavisinin şekli; hastalığın şiddeti, hastalık aktivitesi ve komplikasyonlarına bağlı olarak değişebilmektedir (Onat, 2012; Smolen ve ark, 2017; Çefle ve ark, 2018).

Romatoid Artrit tedavisinde, en yaygın kullanılan ilaç grubu, Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaçlardır (DMARD'lar, DMARD's). Konvansiyonel Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaçlar (cDMARD'lar, cDMARD's) önceki yıllardan beri tedavide kullanılıyor olmasına rağmen son birkaç on yılda, Biyolojik Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaçların (bDMARD'lar) kullanıma sunulmasıyla RA ve diğer otoinflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmıştır (Roussy ve ark, 2013; Roubile ve ark, 2015; Fassmer ve ark, 2016). Son yıllarda hızlı değişiklikler gözlenmiştir. cDMARD' lar yaklaşık 50 yıldır mevcut olmasına rağmen, bDMARD'ların çoğu son 15 yılda piyasaya girmiştir. RA tedavisinde bDMARD'ların etkili olduğu gösterilmiştir ve hastalık aktivitesini kontrol etmek, eklem tahribatını azaltmak ve yaşam kalitesini iyileştirmek için monoterapi veya cDMARD'larla kombinasyon halinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle, hastaların metotreksata yeterli yanıt vermemesi durumunda EULAR ve ACR klinik kılavuzları tarafından önerilmektedir (Singh ve ark. 2016; Smolen ve ark. 2017; Durmaz ve ark, 2024).

Konvansiyonel Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaçlar, metotraksat, hidroksiklorokin, sulfasalazin gibi ilaçlar, RA'nın ilk tedavi seçeneği olup immün sistem aktivitesini düzenleyerek ve eklem iltihabını azaltarak hastalığın seyrini iyileştirebilmektedir. Metotraksat, RA hastalarında uzun vadeli remisyon elde etmek için

kullanılan birincil DMARD'dır (Demirel ve Kırnap, 2008; Jiang ve ark, 2021; Benjamin ve ark, 2024).

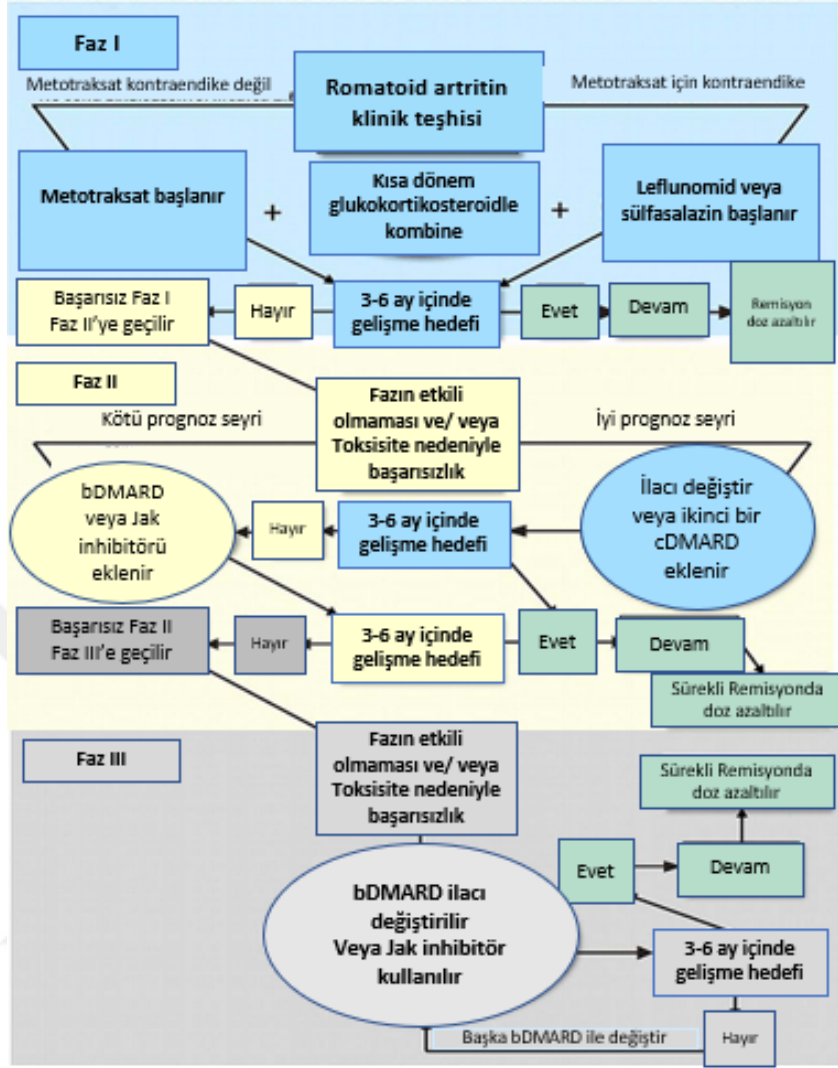
Tümör nekroz faktör-alfa inhibitörleri (adalimumab, infliximab, etanercept), IL-6 reseptör antagonisti (tocilizumab), CD20 antikorları (rituksimab), IL-1 reseptör antagonistleri (anakinra) gibi biyolojik ajanlar (bDMARD'lar), RA tedavisinde etkili olan diğer bir grup ilaçtır. Spesifik immün hücre veya sitokinleri hedef alarak inflamasyonu azaltmaktadır (Ertenli, 2006; Benjamin ve ark, 2024).

Janus kinaz (JAK) inhibitörleri, RA'nın tedavisinde yeni bir sınıfı oluşturmaktadır. Tofacitinib gibi JAK inhibitörleri, immün hücrelerin sinyal iletimini bloke ederek inflamasyonu azaltmakta ve eklem hasarını önlemektedir (Taylor, 2019; Grazziotin ve ark, 2022).

Kortikosteroidler, RA hastalarında inflamasyonu hızla kontrol etmek için kısa süreli kullanıma uygun bir ilaç grubu olarak bildirilmekte; uzun vadeli kullanımında ciddi yan etkilere neden olabileceği literatürde yer almaktadır. Olası yan etkileri nedeniyle diğer ilaçlar ile birlikte uygulanması önerilmektedir (Karadağ ve Kiraz, 2006; Durmaz ve Mutlu Ağardan, 2024).

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), genellikle oral, rektal veya intramusküler uygulanır. COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe ederek 19-hidroksil-prostaglandin E (19-OH-PGE) oluşumunu bloke eder ve böylece terapötik etki gösterirler. Ancak RA'da hastalığın seyrini değiştirebildikleri ya da eklem hasarını önleyebildikleri gösterilmemiştir (Kean ve Buchanan, 2005; Paglia ve ark, 2021).

Romatoid Artrit tedavisinde ilaç seçimi, hastanın hastalık aktivitesi, şiddeti, komorbiditeleri ve yan etkileri gibi faktörlere göre bireyselleştirilmesi tavsiye edilmiştir. Erken tanı ve uygun tedavi ile hastalığın ilerleyişinin durdurulabileceği ve eklem harabiyetinin önlenmesiyle hastanın yaşam kalitesi iyileştirilebileceği önerilmektedir. RA tedavisi sürekli bir süreç olduğu ve hastaların düzenli takibi ve tedavi şeklinin zamanla optimize edilmesinin önem arz ettiği bildirilmektedir (Demirel ve Kırnap, 2008; Taylor, 2019; Benjamin ve ark, 2024).



Şekil 2.4 Romatoid Artrit tedavi yöntemleri seçim diyagramı (van den Hoven ve ark, 2011).

2.9. Romatoid Artrit Hastalığının Beslenme Tedavisi

Romatoid Artrit hastalığında beslenme tedavisi, hastanın BKİ'sinin hastanın yakınmalarının azalması ve semptomatik ağrılarının artışına neden olmaması adına ideal BKİ'nin sağlanması, hastanın inflamasyonla birlikte seyreden kötü prognozunun hafifletilmesi, oksidatif stres kaynaklı RA patogenezinin proinflamatuvar besin çeşitleriyle tetiklenmesinin önüne geçilmesi ve böylelikle hastanın yaşam kalitesinin artırılması amaçlanarak planlanmaktadır (Bozbulut ve ark, 2019). Beslenme alışkanlıklarının ve hastanın diyet örüntüsünün çeşitli inflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olsa da RA patogenezi ve prognozundaki etkisi henüz net bir şekilde gösterilmemiştir (Gómez ve ark, 2017; Bustamante ve ark, 2020).

Romatoid Artrit hastalarının beslenme alışkanlıklarının incelendiği çeşitli çalışmalarda, günlük alınan enerjinin karbonhidrat açısından düşük, doymuş yağ oranının yüksek olduğu; hastalarda diyetten gelen protein, demir, kalsiyum, çinko, folik asit, potasyum, magnezyum, B6 ve E vitamini miktarlarının gereksinim duyulan miktarların altında kaldığı bildirilmiştir (Plasqui, 2008; Clarys ve ark, 2020). RA hastalarının beslenme durumlarının incelendiği çeşitli çalışmalarda, biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi sonucunda demir, D vitamini, serum albümin ve folik asit düzeylerinin düşük seyrettiği gösterilmiştir (Plasqui, 2008; Oğur ve ark, 2020).

Romatolojik hastalıklarda, doku hasarının önlenmesi ve inflamatuvar sürecin baskılanarak patogenezin tetiklenmesinin hafifletilmesi amacıyla günlük yeterli enerji alım miktarının sağlanması ile birlikte protein miktarının 1,5-2 g/kg/gün başına alınması önerilmektedir. RA hastalarında ise, beslenmeye antioksidan özellik gösteren A, C, E vitaminler; selenyum, çinko gibi mineraller ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin omega-3 yağ asitlerinin eklenmesinin hasta remisyonu için etkili olduğu bildirilmiştir (Gómez ve ark, 2017).

Romatoid Artrit hastalığında glütensiz diyet, Akdeniz diyeti, antiinflamatuvar diyet, eliminasyon diyetleri, vegan- vejetaryen diyetler, gibi çeşitli ve farklı diyet yaklaşımları dikkati çekmektedir (Tekeoğlu ve Baykul, 2020; Kaner ver ark, 2021; Aksu ve Öney, 2023). RA hastalarına yönelik çeşitli diyet tedavilerinin incelenmesi sonucunda, eklem ağrılarının ve şişliklerin azaldığı tespit edilmiştir. Bu diyetlerin ortak bir özelliği olarak, antioksidan açısından zengin beslenme önerilmiştir. Yapılan çalışmalarda, hastaya uygun doğru bir beslenme tedavisi ile RA semptomlarının ilerlemesinin önlenileceği söylenmiştir (Kaner ver ark, 2021; Aksu ve Öney, 2023).

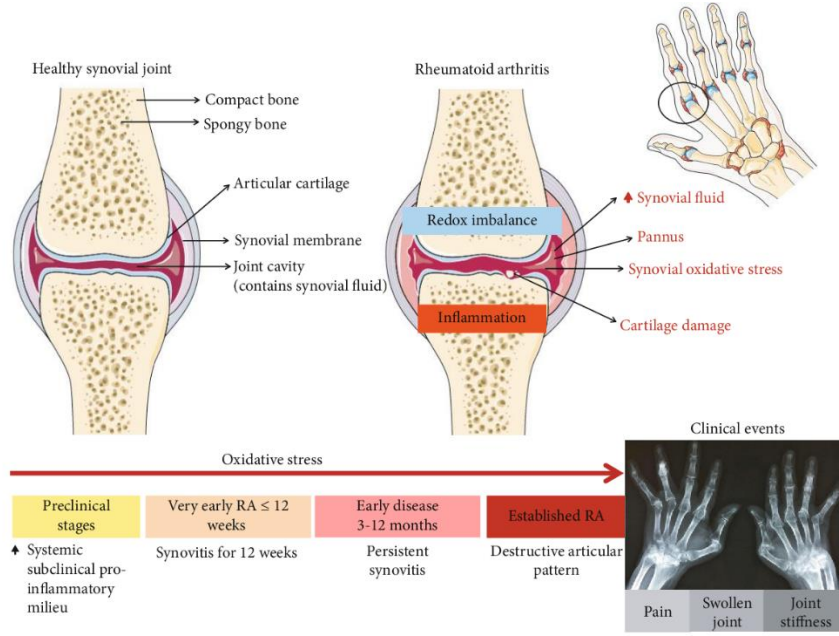
2.10. Romatoid Artrit ile Oksidatif Stres İlişkisi

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında serbest radikaller (hidroksil, süperoksit radikali) ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artması ile ROS'u detoksifiye ederek etkisiz hale getiren antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması olarak adlandırılmaktadır (Özcan ve ark, 2015).

Oksidatif stres, kanser başta olmak üzere diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik ve nörodejeneratif bozukluklar ile inflamatuvar hastalıklar gibi çok sayıda hastalığın patogenezinde sorumludur (Incalza ve ark, 2018; Hayes ve ark, 2020; Griendling ve ark, 2021).

Oksidatif stres artışına bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması RA patofizyolojisinde etkili olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, RA patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını desteklemektedir (Zamudio ve ark, 2022). RA prognozu, temelde sistemik inflamasyona bağlı olarak yaşlanma süreciyle birlikte ilerlemektedir. ROS'un aşırı üretiminin, antioksidan savunmanın azalmasıyla birlikte hücre yıkımını arttırıcı etki gösterebileceği bildirilmiştir. RA hastalarında oksidatif stres sürecinin inflamasyon ve hızlandırılmış eklem yıkımı ile güçlü bir pozitif korelasyona sahip olabileceği gösterilmiştir (Mititelu ve ark, 2020). İnflamasyon varlığı, immün hücrelerin aktivasyonunu ve ROS üretimini artırabilmekte ve böylece eklem dokularında oksidatif stresin artışına neden olabilmektedir. Oksidatif stres, eklem dokularında hücreler harabiyete yol açarak, eklem hasarının ilerlemesine ve kemik erozyonunun artmasına katkıda bulunabilmektedir (Özgeçmen, 2007; Mititelu ve ark, 2020; Sánchez, 2022).

Oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve disfonksiyona neden olabilmektedir. Mitokondriler, ROS'un ana kaynağıdır ve RA oksidatif streste artış, mitokondriyal DNA hasarı ve enerji üretiminde bozulma ile ilişkilendirilmiştir. RA hastalarında antioksidan savunma mekanizmalarının zayıfladığı gösterilmiş; bu durumun hücrelerin ROS' a karşı korunmasız kalması nedeni ile oksidatif stresin etki artışına neden olabileceği bildirilmiştir (Missiroli ve ark, 2020; López-Armkaurada ve ark, 2022).



Şekil 2.5 Romatoid Artrid ile oksidatif stres ilişkisi (Da Fonseca ve ark, 2019).

Romatoid Artrit hastalığında, redoks dengesinin bozulması inflamasyonun artmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak sinoviyal sıvıda artış, pannus oluşumu, sinoviyal oksidatif stres ve eklem kartilaj hasarı oluşmaktadır. Sinoviyal oksidatif stres artışı RA'nın kötü prognozu ile ilişkilendirilmiştir. Eklem arası boşlukta, oksidatif stres ve inflamasyon nedeniyle eklem hasarı meydana gelir. RA patogenezinde etkili otoantikorlar proinflamatuvar sitokin salınımını artırarak oksidatif stresin artması şeklinde etki gösterirken, makrofajlardan salınan TNF, serbest radikallerden ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'leri artırıcı etki gösterir. Proinflamatuvar sitokin salınımını artırarak oksidatif stres artışına neden olur. Serbest radikallerin artışı lipidlerde hasara neden olarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu da oksidatif stres artırıcı etki göstererek sinovit oluşumuna katkıda bulunur ve bu durum kemik harabiyeti ile sonuçlanır (Da Fonseca ve ark, 2019).

2.11. Romatoid Artrit ile İnflamasyon İlişkisi

Romatoid Artrit hastalığının patofizyolojisi, kompleks immünolojik süreçlerin etkileşimiyle karakterizedir. RA, kronik ve otoimmün bir hastalıktır, karakteristik olarak eklem inflamasyonu, doku hasarı ve sistemik etkiler ile seyretmektedir (Shrivastava ve Pandey, 2013). Hastalığın patogenezinde, immün sisteminin anormal aktivasyonu ve eklem

içindeki inflamasyonun sürekli olarak tetiklenmesi kilit bir rol oynamaktadır (Maeno ve ark, 2004; Petrelli ve ark, 2022). T hücrelerinin, özellikle de Th1 ve Th17 alt tiplerinin aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) salınımını artırarak eklem dokularında inflamasyonu arttırır. Bu sitokinler, sinoviyal hücrelerin aktivasyonunu ve buna bağlı kemik erozyonunu arttırır. Ek olarak, B hücrelerinin aşırı aktivasyonu, otoantikorlarının (RF ve anti-CCP) üretimini artırarak eklem hasarına katkıda bulunabilmektedir (Raimund ve ark, 2000; Maeda ve ark, 2022; Petrelli ve ark, 2022).

Romatoid Artritte inflamasyonun sistemik etkileri, VEGF ve diğer anjiyogenik faktörlerin salınımını artırarak anjiyogenezi uyarır. Bu durum, eklemdeki vasküler proliferasyonu ve neovaskülarizasyon artırarak inflamasyonun devamını sağlar (Kowanentz, 2006; Petrelli ve ark, 2022). Bununla birlikte, kronik inflamasyon, sistemik etkileri aracılığıyla eklem dışı belirtilere de yol açabilir. Bunlar arasında kardiyovasküler hastalıklar, anemi, yorgunluk ve diğer inflamasyona bağlı komplikasyonlar bulunmaktadır (Tureson ve ark, 2007; Shrivastava ve ark, 2015; Petrelli ve ark, 2022).

Romatoid Artrit tedavisinde, inflamasyonu hedefleyen ve immün yanıtı düzenleyen çeşitli tedavi seçenekleri kullanılmaktadır. Antiinflamatuvar ilaçlar, immünsupresif ve biyolojik ajanlar, hastalığın seyrini iyileştirmek ve hastalık aktivitesini azaltmak için yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Demirel ve Kırnap, 2008; Aletaha ve Smolen, 2018).

2.12. Kallistatin

Kallistatin, SERPINA4 geni tarafından kodlanan bir serin proteaz inhibitörü (serpin) süper ailesi üyesidir. Ayrıca kallistatin, doku kallikrein bağlayıcı protein (DCBP) olarak tanımlanmıştır (Chao ve ark, 1986). Kallistatin 410 amino asitten oluşur ve tipik bir serpin katlanma yapısına sahiptir. Üç β -tabaka (A, B ve C) ve dokuz α -sarmaldan oluşur. Kallistatin diğer serpinlerden uzatılmış bir C-terminal kuyruk ve bir heparin bağlanma alanı bulundurması nedeniyle ayrılmaktadır. Kallistatin, başta karaciğerde sentezlenmekle birlikte kalp, retina ve kan damarlarında da sentezlenir ve ardından dolaşıma salınmaktadır (Shen, 2008; Kiriktir, 2020).

Kallistatin aktif bölge ve heparin bağlanma alanı olmak üzere iki yapı elemanından oluşmaktadır (Chai ve ark. 1993; Shen 2008). Kallistatin, bu iki önemli yapısal elamanı

sayesinde gen ekspresyonunu düzenleyebilme, biyolojik süreçleri kontrol edebilme ve sinyal yollarını yönetebilme gibi geniş biyolojik etki yelpazesine sahip pleiotropik bir proteindir (Doğan ve ark, 2020; Chen ve ark, 2021).

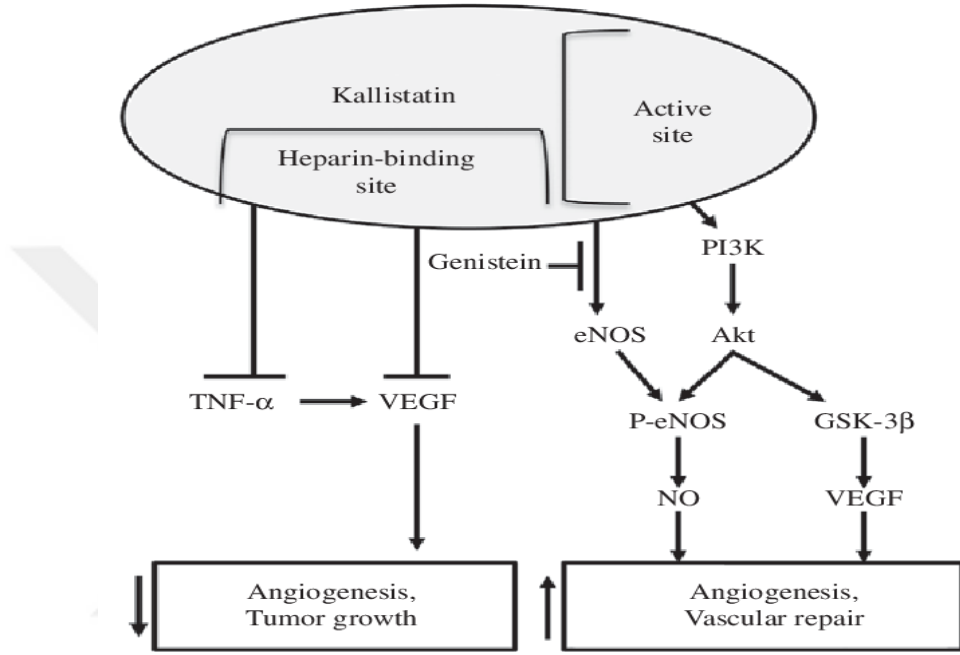
Kallistatin'in aktif bölgesi sayesinde; doku kallikreinin enzimatik aktivitesinin ve biyoyararlanımının inhibisyonu, endotelial hücrelerinde ve endotelial progenitör hücrelerinde (EPC) endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunun ve aktivasyonunun uyarılması, makrofajlarda sirtuin 1 (SIRT1) ve sitokin sinyalleşme 3 supresörü (SOCS3) ekspresyonunun artırılması, miR-34a'nın uyarılması ve meme kanseri hücrelerinde miR-203 sentezinin inhibisyonu, hücre yüzeyi tirozin kinazı ile etkileşime girilmesi gibi biyolojik süreçler üzerinde etkin olarak görev almaktadır (Chao ve ark, 2017).

Kallistatin heparin bağlanma alanı sayesinde ise, hücre yüzeyindeki heparan sülfat proteoglikanlarına bağlanır ve böylece biyolojik etkilerini antagonize eder (Chao ve ark, 2018). Bu etkiler arasında, VEGF tarafından uyarılan anjiyogenez sürecini ve vasküler geçirgenliği, TNF- α ile tetiklenen inflamatuvar yanıt, oksidatif stresi ve hücrel apoptozu azaltıcı etkilerinin düzenlemesi, yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1) kaynaklı inflamasyon, Wnt sinyal yolunu düzenleyerek kanser hücresi çoğalması, invazyonu ve otofajiyi modüle etme, epidermal büyüme faktörü (EGF)'nin neden olduğu kanser hücre migrasyonu ve invazyonu azaltma gibi çeşitli etkileri ve potansiyel terapötik uygulamaları yer almaktadır (Miao ve ark, 2003; Chao ve ark, 2017).

2.12.1. Kallistatin Anjiyogenez İlişkisi

Kallistatin aktif bölge aracılığıyla, EPC'lerin çoğalmasına, dolaşımdan hedef dokulara göç etmesine ve neovaskülarizasyon sürecine katkı sağlamaktadır. EPC'ler vasküler yaralanmalara yanıt olarak neovaskülarizasyonu uyararak hasarlı kan damarlarının yenilenmesinde önemli rol oynar. Bu hücreler, hasarlı bölgelere yönlendirilir ve endotel hasarının onarımında görev alır. Özellikle anjiyogenez sürecinde vasküler geçirgenliği artırarak ve VEGF gibi anjiyogenez faktörlerinin etkilerini güçlendirerek yeni kan damarlarının gelişimi ve tümör büyümesinde önemli rol oynar (Chao ve ark, 2017). Ayrıca kallistatinin aktif bölgesi, endotel hücrelerinde eNOS ve SIRT1 gibi önemli proteinlerin ekspresyon seviyelerini artırır. Ancak, bu etkilerin bir tirozin kinaz inhibitörü olan genistein

tarafından bloke edilmesi, kallistatinin sinyal yollarını etkilemek için tirozin kinaz aktivitesine bağlı olduğunu gösterir. Bu sebeple kallistatin, aktif bölgesi aracılığıyla, EPC'lerin hareketliliğini ve fonksiyonunu uyararak anjiyogenezi ve vasküler onarımı desteklemektedir (Guo ve ark, 2015; Chao ve ark, 2017) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Kallistatinin anjiyogenezdeki çift yönlü rolü (Chao ve ark, 2017). TNF- α : Tümör nekroz faktörü - alfa, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, PI3K: Fosfoinositid 3-Kinaz, NO: Nitrik oksit, GSK-3 β : Glikojen sentaz kinaz-3 beta, eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz, Akt: Protein kinase B

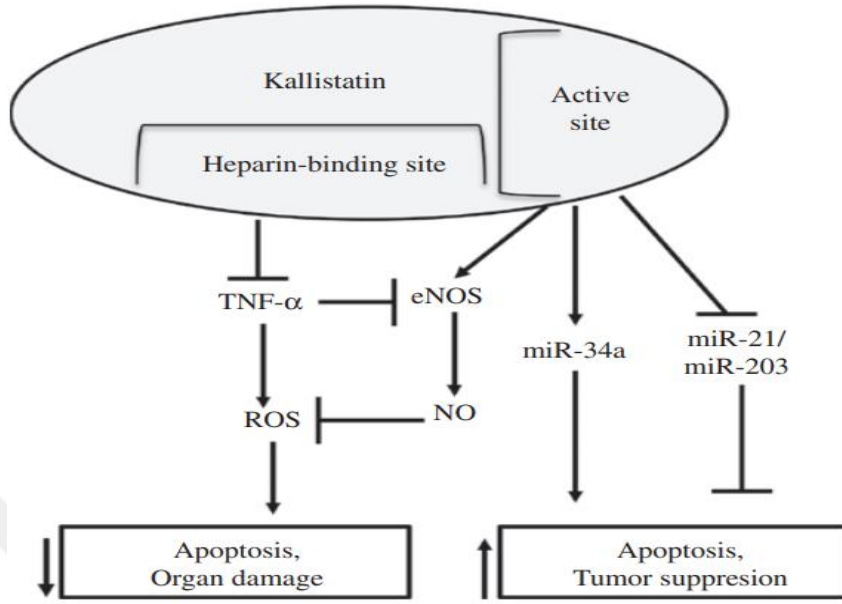
Endojen kallistatinin EPC göçünün tetiklenmesi ve buna bağlı olarak işlevlerinin artırılması yolu ile damar hasarı ve yaşlanmaya karşı koruyucu rol oynadığı, oksidatif stres ve inflamasyonu inhibe ettiği son zamanlarda yapılan çalışmalar ile birlikte ortaya konmuştur. Ekzojen yolla uygulanan kallistatin tedavisi ise hayvan modellerinde aort harabiyeti, yaşlanma, inflamasyon ve buna bağlı olarak oksidatif stresi azaltırken; endotele özgü nakavt veya genel nakavt farelerde vasküler harabiyeti, yaşlanmayı inflamasyonu ve oksidatif stresi şiddetlendirdiği belirtilmektedir (Wang ve ark, 2007; Chao ve ark, 2018; Kiriktir, 2020).

Öte yandan kallistatin, pleiotropik etkisi ile yeni damar oluşumunu engelleyen antianjiyogenik etkilere sahip bir proteindir. Deneysel çalışmalar, kallistatinin neovaskülarizasyon üzerinde baskılayıcı özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Neovaskülarizasyon; kanser, diyabetik retinopati ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi patolojik durumlarda meydana gelen patolojik yeni damar oluşumu şeklinde adlandırılmaktadır. Kallistatin, anjiyogenezi inhibe ederek tümörlerin büyümesini ve yayılmasını bastırabilmekte ve anormal kan damarı oluşumu ile ilişkili hastalıkların ilerlemesini hafifletebileceği gösterilmektedir. Araştırmalar, kallistatin uygulamasının diyabetik retinopati ve koroidal neovaskülarizasyon gibi göz hastalıkları bağlamında patolojik anjiyogenezi azaltabileceğini göstermiştir (Wang ve ark, 2011; Huang ve ark, 2014, Kiriktir, 2020).

2.12.2. Kallistatin ile Apoptoz İlişkisi

Kallistatin, hücre tiplerine bağlı olarak apoptozu hem inhibe edebilen hem de indükleyebilen bir proteindir. Oksidatif stres, doku hasarı, hücrel apoptoz ve yaşlanma gibi süreçleri tetikleyebilmektedir. Ancak kallistatin, heparin bağlama bölgesi yoluyla özellikle endotelial hücrelerde ve EPC'lerde fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)-Akt-eNOS sinyal yolunu aktive ederek TNF- α kaynaklı oksidatif stresi ve apoptozu engellemektedir. Kallistatin aynı zamanda EPC'lerde eNOS sentezini ve nitrik oksit (NO) oluşumunu TNF- α tarafından baskılanmasını azaltarak antagonize etmektedir. Aktif bölgesi ise Kruppel benzeri faktör-4 (KLF-4) ile etkileşerek eNOS sentezini uyarak ve PI3K yolu aracılığıyla eNOS aktivitesini artırmaktadır. Bu süreçler sonucunda yükseltilmiş NO oluşumu sağlanır ve Akt yolu NAD(P)H oksidaz aktivitesini ve reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu inhibe etmektedir (Gao ve ark, 2008; Gao ve ark. 2014).

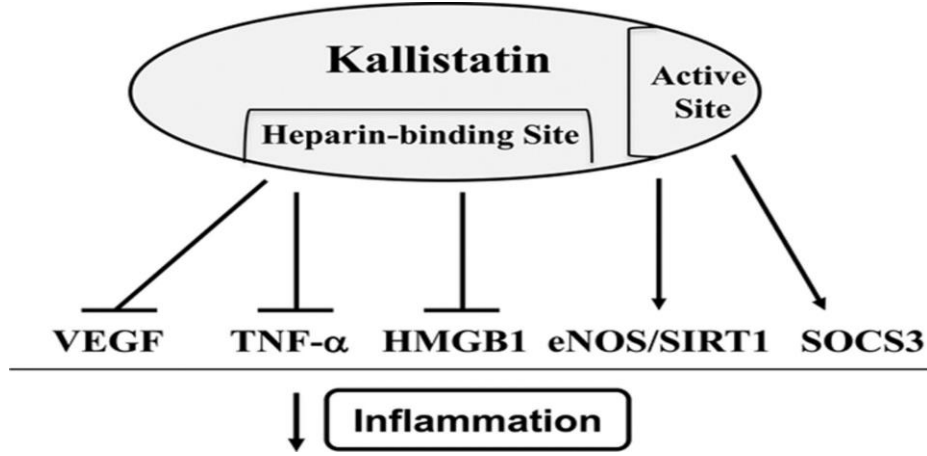
Kallistatin, apoptozda heparin bağlama alanı aracılığıyla TNF- α tarafından indüklenen oksidatif stresi azaltırken, aktif bölgesi antioksidan enzim ekspresyonunu uyarmak için kritik öneme sahiptir. Bu şekilde, kallistatin hem oksidatif stresi inhibe eden hem de NO üretimini artırarak anti-apoptotik etkiler gösteren iki yapısal element aracılığıyla biyolojik süreçleri düzenlemektedir (Yin ve ark, 2010; Chao ve ark, 2017; Gao ve ark, 2024). (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Kallistatinin apoptozda çift yönlü rolü (Chao ve ark, 2017) TNF- α : Tümör nekroz faktörü -alfa, ROS: Reaktif oksijen türleri, eNOS: Endotelial nitrik oksit sentaz, NO: Nitrik Oksit, miR: mikroRNA.

2.12.3. Kallistatin İnflamasyon İlişkisi

Kallistatin, inflamasyon süreçlerini düzenleyen ve modüle eden bir protein olarak bilinmektedir. İnflamasyon, bir dizi hücrel yanıt ve immün sistemin aktivasyonu ile karakterize olan bir biyolojik süreçtir. Normal şartlarda inflamasyon vücudun savunma mekanizması olarak yararlıdır ve yaralanma, enfeksiyon veya doku hasarı gibi durumlarda iyileşmeye katkıda bulunmaktadır. Ancak, kronik inflamasyon, çeşitli hastalıkların patogeneğinde etkili olmaktadır (Wang ve ark, 2020).



Şekil 2.8 Kallistatinin inflamasyondaki çift yönlü rolü (Chao ve ark, 2016). TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, SOCS3: Sitokin uyarısı baskılayıcı protein-3, HMGB1: Yüksek mobilite grup kutusu 1, SIRT1: Sirtuin 1, eNOS: Endotelial nitrik oksit sentaz.

Kallistatin, inflamasyon süreçleri üzerinde hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkiler göstermektedir. NF- κ B, inflamatuvar yanıtları düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür; kallistatin de NF- κ B aktivitesini baskılayarak, inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak inflamatuvar sürecini azaltıcı etki gösterebilmektedir. Kallistatin, heparin bağlanma bölgesi aracılığıyla inflamatuvar sitokinlerin üretimini düzenleyerek IL-6 ve TNF- α gibi önemli inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltıcı etki göstermekte, VEGF üzerindeki inhibe etme etkisi ile özellikle anjiyogenez ve inflamasyon süreçlerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Chao ve ark, 2016; Wang ve ark, 2023). Kallistatinin aktif bölgesi aracılığıyla ise eNOS ve SIRT1 ekspresyonunu regüle etmesi ile nitrik oksit (NO) üretimini artırarak vasküler inflamasyonu azaltıcı etki göstermektedir (Chao ve ark, 2016) (Şekil 2.8).

2.12.4. Kallistatin ile Oksidatif Stres İlişkisi

Oksidatif stres, hücrelerdeki serbest radikal ve ROS birikimi sonucu hücresel hasara neden olan bir durum yaratmakta; bu durum DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlere zarar verebildiğinden hastalık patogeneğinde etkili olmaktadır. Kallistatin, oksidatif stresin önlenmesinde ve hücresel homeostazın korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Chao ve ark, 2018).

Kallistatinin heparin bağlanma bölgesi sayesinde VEGF ile indüklenen anjiyogenez, Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta (TGF- β)'nın hücre sinyallemesi ve TNF- α ile indüklenen inflamasyon üzerindeki inhibe edici etkileri ile oksidatif stresi azaltıcı etki göstererek vasküler sağlığı koruyucu etki göstermektedir. (Chao ve ark, 2017; Chao ve ark, 2018).

Kallistatin, antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen bir protein olarak dikkat çekmektedir. Kallistatin, ROS'un hücrelerdeki zararlı etkilerini azaltarak oksidatif stresin etkilerini engeller. Bu antioksidan etki, kallistatinin aktif bölgesi aracılığıyla ROS'ları doğrudan nötralize etmesi veya ROS üretimini inhibe etmesi yoluyla gerçekleşebilmektedir (Chao ve ark, 2016). Kallistatinin, hücrelerdeki oksijen radikallerini temizleyerek hücrel hasarı azalttığı ve inflamatuvar yanıtların önlenmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Chao ve ark, 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamıza Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları (Romatoloji) Kliniği'ne RA tanısıyla başvuran hastalar ile bunlarla yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı bireyler dahil edildi. Mevcut çalışma için RA hastalık aktivite sınıflandırma ölçeklerinden biri olan DAS28'e göre sınıflandırma yapılarak, üç hasta grubu oluşturuldu. Birinci gruba RA tanısıyla takip edilen ve remisyonda olan 25 hasta, ikinci gruba RA tanısıyla takip edilen düşük hastalık aktivitesi gösteren 25 hasta, üçüncü gruba RA tanısıyla takip edilen ve orta-ağır hastalık aktivitesi gösteren 30 hasta dahil edildi. Ayrıca hasta gruplarıyla yaş ve cinsiyet uyumlu 25 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edildi.

Kontrol grubu hastanemizde çalışan, kalp hastalığı, diyabet, hipertansiyon, romatolojik hastalık, nörolojik hastalık, böbrek hastalığı gibi kronik hastalıkları olmayan ve aktif/kronik enfeksiyonu bulunmayan bireyler dahil edildi. Çalışmaya 18 yaş altı ve gebe hastalar dahil edilmedi.

Ayrıca hasta grubuna diyabet, hipertansiyon, kalp hastalığı gibi kronik hastalıklar ile RA dışında romatolojik hastalığı olan bireyler ve aktif enfeksiyonu olan hastalar dahil edilmedi.

3.2. Etik Kurul Onayı

Mevcut çalışma, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm bireyler çalışmanın içeriği ile ilgili yazılı ve sözlü olarak bilgilendirildi ve katılımcılardan aydınlatılmış onam formu alındı.

Çalışmaya Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11.01.2023 tarih ve 02 numaralı karar ile etik onay alınarak başlandı.

3.3. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması

Çalışmaya katılan tüm bireylerden jelli sarı kapaklı biyokimya tüplerine 8 mL kan örneği alındı. Alınan kanlar pıhtılaşma için 20 dakika bekletildikten sonra 1500xg'de 10

dakika süreyle santrifüj edildi ve süpernatantları ayrılıp eppendorf tüplere aktarılarak analizler için çalışma gününe kadar -80 °C’de saklandı. Elde edilen serum örneklerinde ELISA parametreleri ve oksidatif stres parametreleri çalışıldı.

Hastalardan poliklinik muayenesi sırasında istenen otoantikorlar, yaş ve cinsiyet gibi demografik veriler ile aldıkları tedaviler Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS) üzerinden kayıt altına alındı.

3.4. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Kullanılan malzemeler; numunelerin alınması için jelli biyokimya tüpü (BD Vacutainer SST II Advance); kullanılan cihazlar, numunelerden serum eldesi için soğutmalı santrifüj (Thermo Scientific SL 16 R, UK), serum örneklerinin eppendorflara porsiyonlanması için kalibre edilmiş otomatik pipet (Axygen, single-channel digital pipettor, Warszawa, POLAND), serum örneklerinin saklanması için derin dondurucu (New Brunswick Scientific U570) kullanıldı. TAS ve TOS ölçümü ve ELISA yönteminde yapılması planlanan spektrofotometrik ölçüm için Thermo Fisher Scientific/Multiskan Go (Finland) cihazı, mikrolaka yıkaması için mikrolaka yıkayıcı (Thermo Scientific Wellwash Cat No: 5165000) kullanıldı.

3.5. Numunelerin Çalışılması

3.5.1. Serum Total Antioksidan Status (TAS) Ölçümü

Serum Total Antioksidan Status (TAS) ölçümü Elabscience marka kit (Cat no: E-BC-K801-M) ile kolorimetrik yöntemle Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Biyokimya ABD’da çalışıldı.

Deney Prosedürü

1. Çalışma gününde, daha önce -80 °C’de saklanan doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Farklı konsantrasyonlarda 10 µL standart ve 10 µL örneklerden alınarak, mikrolakaya eklendi.

3. Sonra, üzerlerine 200 µL R1 reaktifi ilave edildikten sonra 660 nm’de ilk absorbans ölçümü mikrolaka okuyucuda (Thermo Fisher Scientific/Multiskan Go (Finland)) yapıldı. A1 olarak kaydedildi.

4. Tüm kuyucuklara 20 µL R2 reaktifi eklendi.

5. Mikrolaka 5-6 kez karıştırılıp, 37 °C’de 5 dakika inkübasyona bırakıldı.

6. İnkübasyonun ardından Her kuyucuğun 660 nm’de ikinci absorbans ölçümü alındı.

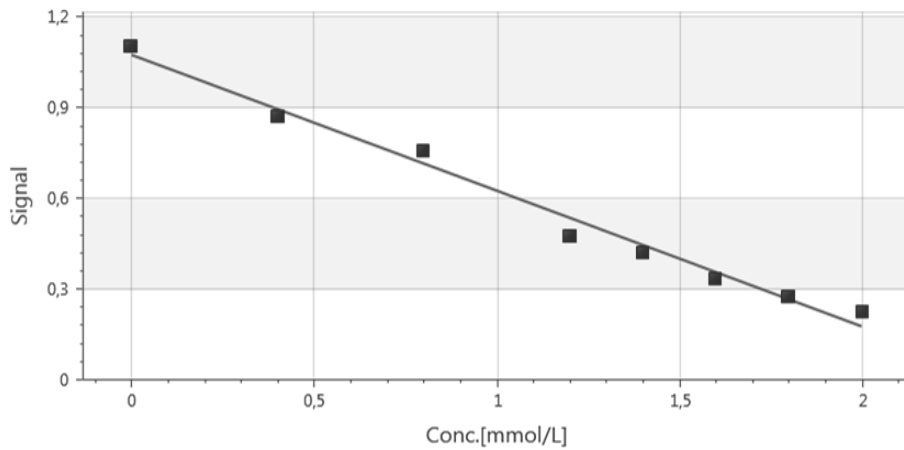
A2 olarak kaydedildi.

7. Sonuçlar, aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplandı.

8. Standart olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı. Sonuç birimi mmol Trolox Equiv./L olarak ifade edildi.

$$y=ax+b$$

$$\text{TAS (mmol Trolox Equiv./L)} = (\Delta A_{660} - b) \div a \times f$$



Şekil 3.1 Serum TAS standart grafiği

$$y = -0,44932x + 1,07788$$

$$R^2: 0,986$$

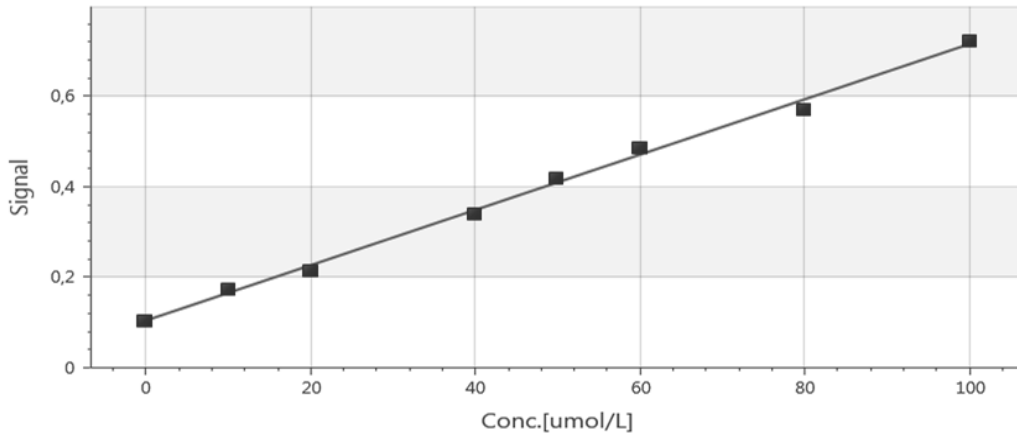
3.5.2. Serum Total Oksidan Status (TOS) Ölçümü

Serum Total Oksidan Status (TOS) ölçümü Elabscience marka kit (Cat no: E-BC-K802-M) ile kolorimetrik yöntemle Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Biyokimya ABD’da çalışıldı.

Deney Prosedürü

1. Çalışma gününde, daha önce -80 °C’de saklanan serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Farklı konsantrasyonlarda 20 µL standart ve 20 µL örneklerden alınarak, mikropalakaya eklendi.
3. Sonra, üzerlerine 200 µL R1 reaktifi eklendi.
4. 5 saniye kadar mikropalaka okuyucuda karıştırıldı.
5. 590 nm’de ilk absorbans ölçümü mikropalaka okuyucuda (Thermo Fisher Scientific/Multiskan Go (Finland)) yapıldı. A1 olarak kaydedildi.
6. Tüm kuyucuklara 50 µL R2 reaktifi eklendi.
7. 5 saniye kadar mikropalaka okuyucuda karıştırıldı.
8. Mikropalaka 37 °C’de 5 dakika inkübasyona bırakıldı.
9. İnkübasyonun ardından her kuyucuğun 590 nm’de ikinci absorbans ölçümü alındı. A2 olarak kaydedildi.
10. Sonuçlar, aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplandı.

Standart olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı. Sonuçlar, (µmol H₂O₂ Equiv./L) Eşdeğeri/L olarak ifade edildi.



$$y=ax+b$$

$$\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) = (\Delta A_{590} - b) \div a \times f$$

$$y = 0,00610887x + 0,105588$$
$$R^2: 0,996$$

Şekil 3.2 Serum TOS standart grafiği

3.5.3. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması

TAS ve TOS değerleri belirlendikten sonra, oksidatif yükün göstergesi olan oksidatif stres indeksi (OSI) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Oksidatif stres indeksi} = (\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) / (\text{TAS (mmol Trolox/L)} * 100)$$

3.6. ELISA Yöntemi ile Ölçülen Parametreler

Elde edilen serum örnekleri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Biyokimya Ana Bilim Dalı ELISA Laboratuvarı'nda sandviç ELISA yöntemiyle çalışıldı.

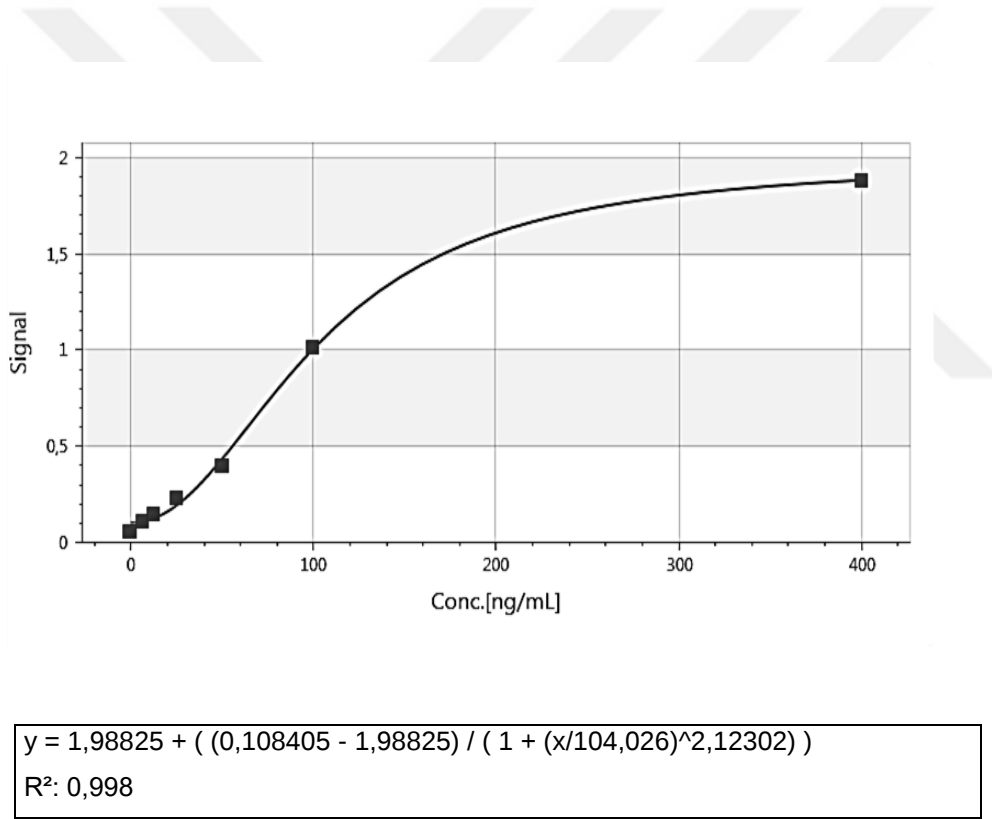
3.6.1. Serum Kallistatin Ölçümü

Kallistatin tayini için sandviç ELISA yöntemi ile çalışan (ELK Biotechnology, Human KAL(Kallistatin) ELISA Kit, Cat no: ELK4085) ticari kit kullanıldı. Optik dansite 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuç ng/mL olarak ifade edildi. Analiz aralığı 6.25-400 ng/mL ve hassasiyet 2.46 ng/mL'dir. Presizyon, intra-assay CV < % 8 ve inter-assay için CV < % 10'dur.

Deney prosedürü

1. Kit protokol kitapçığı içerisinde yer alan talimatlara göre hazırlanan standartlardan ve çalışılacak serum örneklerinden 100'er µL mikrolaka kuyucuklarına yüklendi.
2. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 80 dakika inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası mikrolaka kuyucukları aspire edildi ve 3 defa yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).
4. Tüm kuyucuklara 100 µL Biotin-labeled Antibody solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
5. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonrasında mikrolaka kuyucukları aspire edildi ve her kuyucuk 3 defa yıkanacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).

7. Tüm kuyucuklara 100'er µL HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
8. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.
9. Plate aspire edildi ve her kuyucuk için 5 defa yıkama yapılacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı.
10. Karanlık ortamda tüm kuyucuklara 90 µL TMB substrat solüsyonu eklendi.
11. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 20 dakika inkübe edildi.
12. Tüm kuyucuklara 50 µL Stop solüsyonu eklendi.
13. Spektrofotometre ile 450 nm'de plate kuyucuk absorbansları ölçüldü ve sonuçlar standart eğri grafiğine göre hesaplandı.



Şekil 3.3 Serum kallistatin standart grafiği

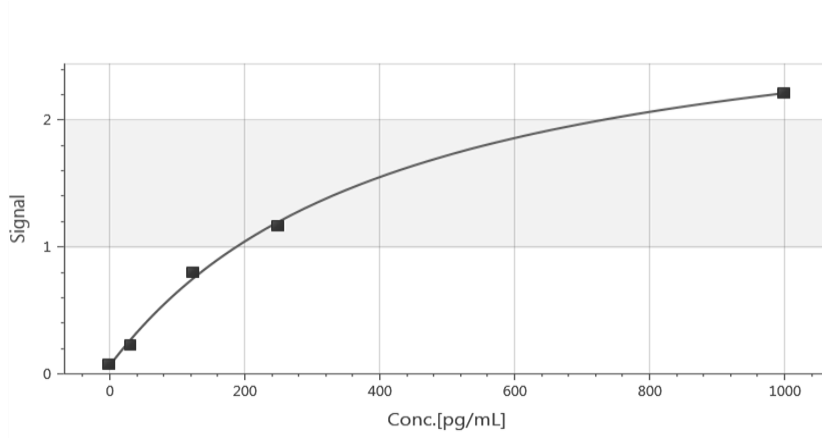
3.6.2. Serum Tümör Nekroz Faktörü-Alfa Ölçümü

Serum TNF-α ölçümü için sandviç ELISA yöntemi ile çalışan (ELK Biotechnology, Human TNF-α (Tümör Nekroz Faktörü-Alfa) ELISA Kit, Cat no: ELK1190) ticari kit kullanıldı. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi

kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Analiz aralığı 15.63-1000 pg/mL ve hassasiyet 6.5 pg/mL'dir. Presizyon, intra-assay CV< % 8 ve inter-assay için CV< % 10'dur.

Deney prosedürü

1. Kit protokol kitapçığı içerisinde yer alan talimatlara göre hazırlanan standartlardan ve çalışılacak serum örneklerinden 100'er µL mikrolaka kuyucuklarına yüklendi.
2. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 80 dakika inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası mikrolaka kuyucukları aspire edildi ve 3 defa yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).
4. Tüm kuyucuklara 100 µL Biotin-labeled Antibody solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
5. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonrasında mikrolaka kuyucukları aspire edildi ve her kuyucuk 3 defa yıkanacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).
7. Tüm kuyucuklara 100'er µL HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
8. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.
9. Plate aspire edildi ve her kuyucuk için 5 defa yıkama yapılacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı.
10. Karanlık ortamda tüm kuyucuklara 90 µL TMB Substrat Solüsyonu eklendi.
11. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 20 dakika inkübe edildi.
12. Tüm kuyucuklara 50 µL Stop solüsyonu eklendi.
13. Spektrofotometre ile 450 nm'de plate kuyucuk absorbansları ölçüldü ve sonuçlar standart eğri grafiğine göre hesaplandı.



$$y = 3,09473 + (0,0666683 - 3,09473) / (1 + (x/414,715)^{1,01414})$$

$$R^2: 0,998$$

Serum TNF- α standart grafiği

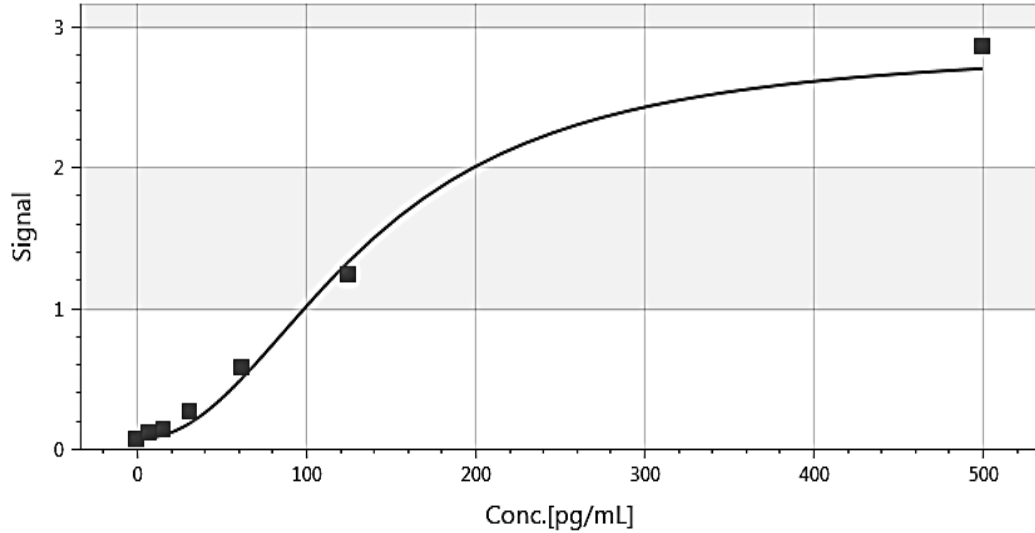
3.6.3. Serum Interlökin-6 Ölçümü

Serum IL-6 ölçümü için sandviç ELISA yöntemi ile çalışan (ELK Biotechnology, Human IL-6 (Interleukin 6) ELISA Kit, Cat no: ELK1156) ticari kit kullanıldı. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Analiz aralığı 7.82-500 pg/mL ve hassasiyet 3.2 pg/mL'dir. Presizyon, intra-assay CV<% 8 ve inter-assay için CV< %10'dur.

Deney prosedürü

1. Kit protokol kitapçığı içerisinde yer alan talimatlara göre hazırlanan standartlardan ve çalışılacak serum örneklerinden 100'er μ L mikropłaka kuyucuklarına yüklendi.
2. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 80 dakika inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası mikropłaka kuyucukları aspire edildi ve 3 defa yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).
4. Tüm kuyucuklara 100 μ L Biotin-labeled Antibody solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
5. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.

6. İnkübasyon sonrasında mikropkaya kuyucukları aspire edildi ve her kuyucuk 3 defa yıkanacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır).
7. Tüm kuyucuklara 100'er µL HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) solüsyonu (ilgili solüsyon kit prospektüsüne uygun olarak dilue edilerek hazırlanmıştır) eklendi.
8. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 50 dakika inkübe edildi.
9. Plate aspire edildi ve her kuyucuk için 5 defa yıkama yapılacak şekilde yıkama cihazı ile yıkandı.
10. Karanlık ortamda tüm kuyucuklara 90 µL TMB Substrat Solüsyonu eklendi.
11. Plate etüv içerisinde 37 °C'de 20 dakika inkübe edildi.
12. Tüm kuyucuklara 50 µL Stop solüsyonu eklendi.
13. Spektrofotometre ile 450 nm'de plate kuyucuklarının absorbansları ölçüldü ve sonuçlar standart eğri grafiğine göre hesaplandı.



$$y = 2,8693 + (0,0818 - 2,8693) / (1 + (x/137,218)^{2,15556})$$

R²: 0,992

Şekil 3.5 Serum IL-6 standart grafiği

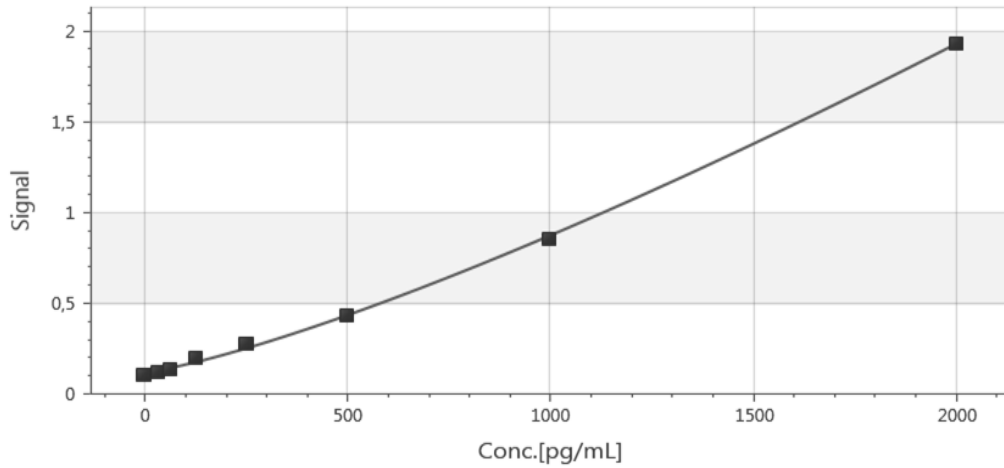
3.6.4. Serum VEGF Ölçümü

Serum VEGF ölçümü için sandviç ELISA yöntemi ile çalışan (FineTest, Human VEGF (VEGF) ELISA Kit, Cat no: EH0327) ticari kit kullanıldı. 450 nm'ye ayarlanmış bir

mikroplaka okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Analiz aralığı 31.25-2000 pg/mL ve hassasiyet 18.75 pg/mL. Presizyon, intra-assay CV<%8 ve inter-assay için CV<%10'dur.

Deney Prosedürü

1. Örnek, kör ve standartlar için kuyucuklar belirlendi. Kit prospektüsü içerisinde yer alan talimatlara göre hazırlanan standartlardan ve çalışılacak serum örneklerinden 100'er µL plate yüklendi.
2. Plate sealer ile kaplanıp, etüv içerisinde 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası plate aspire edildi. Toplamda 2 kez yıkama cihazında yıkandı (Yıkama cihazına eklenen yıkama solüsyonu kit prospektüsüne uygun olarak hazırlanmıştır).
4. Her kuyucuğa 100 µL Biotin-labeled Antibody solüsyonu eklendi.
5. Plate kuyucukları plate sealer ile kaplama işleminden sonra 37 °C'de 60 dk inkübe edildi.
6. Yıkama işlemi ikinci adımdaki gibi 3 kez tekrarlandı.
7. Her kuyucuğa 100 µL HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) çalışma solüsyonu eklendi.
8. Plate sealer ile kaplanıp ve 37 °C'de 30 dk inkübe edildi.
9. Yıkama işlemi ikinci adımdaki gibi 5 kez tekrarlandı.
10. Her kuyucuğa 90 µL TMB substrat solüsyonu eklendi.
11. 37 °C'de 15 dk karanlıkta inkübe edildi. Kuyucuklar içindeki sıvının TMB eklendikten sonra maviye dönüşümü gözlemlendi.
12. Ölçümden yaklaşık 15 dk öncesinde mikroplaka okuyucu önceden ısıtılması için ayarlandı.
13. Her kuyucuya 50 µL Stop reaktifi eklendi. Stop reaktifi eklendikten sonra sıvının sarıya dönüşü gözlemlendi.
14. Plaka üzerinde herhangi bir sıvı ve parmak izi olmadığından emin olduktan sonra mikroplaka okuyucu da 450 nm'de okuma işlemi gerçekleştirildi.
15. Sonuçlar standart eğri grafiğine göre hesaplandı.



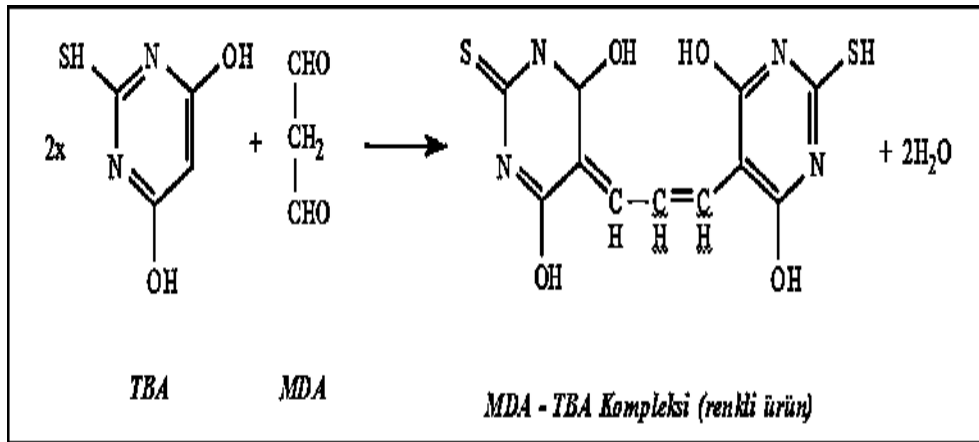
$$y = 1,82819E+06 + ((0,124698 - 1,82819E+06) / (1 + (x/1,13381E+08)^{1,26333}))$$

$$R^2: 0,999$$

Serum VEGF standart grafiği

3.7. Malondialdehit (MDA) Miktarının UV Spektrofotometre ile Tayini

Malondialdehit (MDA) tayini, Hammode ve Arkadaşları'nın modifiye ettiği, çift kaynatma esasına dayalı yöntem ile çalışıldı. İlk kaynatmada proteinlere bağlı olan MDA'nın serbestleşmesi için proteinler çöktürüldü; ikinci kaynatmada total MDA, tiobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asidik ortamda reaksiyona girer ve renkli kompleks oluşturur. TBA-MDA'nın oluşturduğu (Şekil 3.7) renkli kompleks, 532 nm dalga boyunda MDA konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak absorbanans vermektedir.



Şekil 3.7 MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı

Kullanılan reaktifler:**TCA' nın hazırlanması**

10g %10'luk trikloroasetik asit (TCA) alındı, 100 mL distile suya tamamlandı.

TBA' nın hazırlanması

0,675g %0,675'lik tiobarbitürik asit (TBA) alındı, 100 mL distile suya tamamlandı.

Çalışma protokolü:

MDA tayini yapılmadan önce vidalı cam tüplere grup isimleri ve numaraları yazıldı; tüpler 90°C benmaride 15 dakika inkübasyona maruz kalacağı için yazılar su buharı nedeniyle silinmeyecek şekilde yazıldı.

1. MDA tayini için kör tüpüne 500 µL distile su, numune tüpüne ise 500 µL numune (serum) eklendi.

2. Daha sonra her bir numunenin üzerine önceden hazırlanmış olan TCA çözeltisinden 2500 µL eklendi ve vortekslenildi. Vorteksin ardından hemen ağzı vidalandı ve daha önce hazırlanmış 90°C benmariye yerleştirilerek, 15 dakika süreyle inkübe edildi.

3. İnkübasyonun ardından tüpler soğuk suyla soğutuldu. Tüpler soğuduktan sonra kapaklar çıkartılarak; tüplerin ağzı parafilmlelenerek 3000xg'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edildi.

4. Santrifüj aşaması bittikten hemen sonra tüpler sarsılmayacak şekilde çıkartılıp parafilmli açıldı.

5. Daha sonra her bir numune için önceden hazırlanmış diğer vidalı tüplere ekstrakt edilmiş tüplerden çökeleğe dokunmadan süpernatant kısmından 2 mL pipetlenip aktarıldı.

6. Daha sonra kör ve numune tüplerine 1'er mL önceden hazırlanmış olan TBA'dan eklendi.

7. Eklemeden sonra tüm tüpler hızlıca vortekslenip tekrar 90 °C benmaride 15 dakika inkübe edildi, inkübasyon esnasında numunelerin hafif turuncu; inkübasyon sonunda ise yavruağzı rengine döndüğü izlendi. Ardından tüpler benmariden çıkartılıp soğutuldu, Son olarak spektrofotometre ile 532 nm dalga boyunda fotometrik ölçüm yapıldı. Körden başlamak suretiyle yapılan ölçümde körün absorbansı sıfırlanıp kör tüpü

spektrofotometreden çıkarıldı ve diğer tüplere sırasıyla fotometrik ölçüm yapıldı, çıkan absorbans değerleri kaydedildi.

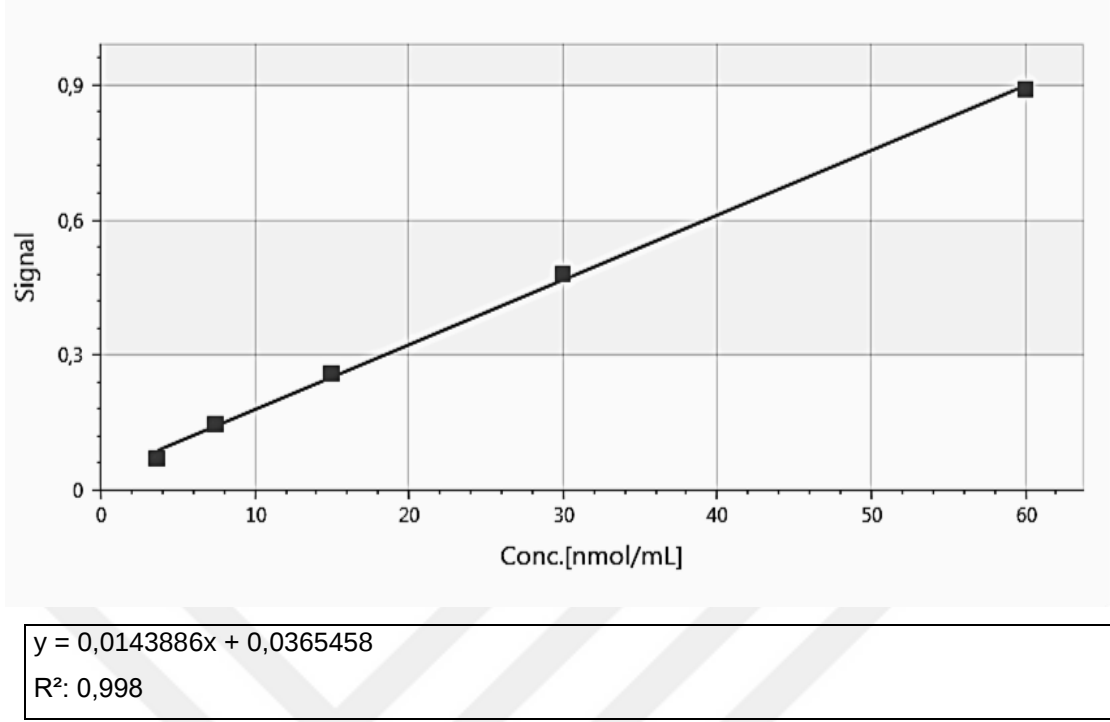
10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü	Numune tüpü
%10'luk TCA (mL)	2500 µL	2500 µL
Numune (mL) Serum	-	500 µL
Distile su (mL)	500 µL	-

Numuneler tekrar 5 saniye süreyle vortekslendi. Tüpün ağzı kapatılarak 90 °C'de 15 dakika benmaride inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutuldu. Süpernatant 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi.

10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü	Numue tüpü
Süpernatant (mL)	2000 µL	2000 µL
%0.675'lik TBA (mL)	1000 µL	1000 µL

Tekrar vortekslendi. Tüpün ağzı kapatılarak 90 °C'de 15 dakika tekrar benmaride inkübe edildi. Soğuk çeşme suyu ile soğutuldu. 532 nm'de köre karşı okundu.

Hesaplama: TBA-MDA kompleksinin ekstinksiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanılarak nmol/mL cinsinden MDA değerleri hesaplandı.



Şekil 3.8 MDA standart grafiği

Deneyin standart grafiği, 2 adet MDA molekülünün birleşmesinden oluşan 1,1,3,3-tetramethoxypropane ile hazırlandı. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar numuneler ile aynı şartlarda çalışıldı ve spektrofotometrede okunmalarından elde edilen birimler (arbitrary unit) ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak MDA miktarı mL başına nmol olarak hesaplandı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS (Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paket Programı) versiyon 22.0 (IBM, Armonk, NY, USA) ile yapıldı. Sürekli değişkenler ortanca (25-75. persentil); MDA için Ortalama $\pm$ SS (standart sapma) şeklinde ifade edildi, kategorik veriler oran şeklinde ifade edildi. Kategorik verilerin karşılaştırmaları Ki-Kare Testi ile yapıldı.

Sürekli değişkenlerin normallik analizleri Shapiro-Wilk Testi ile yapıldı. Normal dağılıma uyan verilerin dört grup arasındaki karşılaştırmaları için One way ANOVA Testi, uymayanlar için Kruskal Wallis Test (Post hoc: Mann Whitney U Testi) kullanıldı. Değişkenler arasındaki doğrusal ilişki Spearman Korelasyon Testi ile analiz edildi. Hasta grupları arasındaki karşılaştırmada Student T-test kullanıldı. Serum kallistatin ile diğer değişkenler arasında genel lineer regresyon analizi ile tek değişkenli ve çok değişkenli korelasyon analizi yapıldı.

Romatoid Artrit hastalarında IL-6, TNF- α , kallistatin, TOS, OSI, MDA parametrelerinde Alıcı İşletim Karakteristiği (Receiver Operating Characteristic, ROC) analizi uygulanarak eğri altındaki alan, duyarlılık, özgüllük değerleri verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak ele alındı. Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U Test için istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,0125$ olarak ele alındı.

4. BULGULAR

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Romatoloji Polikliniği'ne başvuran RA tanısı almış, DAS28 aktivite skorlamasına göre aktivite sınıflandırması yapılarak remisyon RA, düşük aktiviteli RA ve orta-ağır aktiviteli RA hasta gruplarını içeren toplam 80 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmanın kontrol grubu ise hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 25 sağlıklı kişi dahil edilerek oluşturulmuştur.

4.1. Çalışma Gruplarına Ait Demografik Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarına ait demografik veriler Çizelge 4.1'de verilmiştir. Kontrol grubunun yaş ortalaması 48,52; remisyon RA grubunun yaş ortalaması 45,5; düşük aktiviteli RA grubunun yaş ortalaması 48,82 ve orta-ağır aktiviteli RA grubunun yaş ortalaması 50,81 olarak bulunmuştur ($p=0,413$). Gruplar arasında cinsiyet ($p=0,871$) ve yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. Çalışma gruplarına ait demografik veriler

Parametre	Kontrol (n=25)	Remisyon (n=25)	Düşük (n=25)	Orta-Ağır (n=30)	p değeri
Cinsiyet* (K/E)	20/5	20/5	19/6	24/6	0,871
Yaş (yıl)* Ortalama $\pm$ SS	48,52 $\pm$ 9,95	45,5 $\pm$ 7,56	48,82 $\pm$ 11,13	50,81 $\pm$ 11,57	0,413

*One Way ANOVA testi, K/E: Kadın cinsiyetin erkek cinsiyete göre oranı, SS: Standart sapma

4.2. Çalışma Gruplarına Ait İnflamasyon İlişkili Test Sonuçları Değerlendirmesi

Çalışma gruplarına ait inflamasyon ile ilişkili test sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında CRP düzeylerinin orta-ağır aktiviteli RA gruplarında; kontrol grubu, remisyon RA ve düşük aktiviteli RA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Orta-ağır aktiviteli RA grubunda ise düşük aktiviteli RA grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı

derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Sedimantasyon düzeylerinin ise orta-ağır aktiviteli RA gruplarında, kontrol grubu, remisyon RA ve düşük aktiviteli RA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,001$).

Çizelge 4.2. Çalışma gruplarına ait inflamasyon ilişkili test sonuçları

Parametre	Kontrol (n=25)	Remisyon (n=25)	Düşük (n=25)	Orta- Ağır (n=30)	p değeri
CRP (mg/dL)*					
Ortanca (min-max)	3 (2-3)	4 (3-3,5)	4 (3-6)	12 (4,1-24)	<0,001^{c,e,f}
Sedim (mm/h)*					
Ortanca (min-max)	5 (4-7)	9 (6-13)	11 (4-14)	24 (13,5-35,5)	<0,001^{c,e,f}

*One Way ANOVA testi, b, c, e ve f ikili kıyaslamaları temsil etmektedir. b: Kontrol grubu ile Remisyon hasta grubu arasındaki, c: Kontrol ile orta-ağır hasta grubu arasındaki, e: remisyon hasta grubu ile orta- ağır hasta grubu arasındaki, f: düşük aktiviteli hasta grubu ile orta- ağır hasta grubu arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. CRP: C-reaktif protein, Sedim: Sedimantasyon, min: minimum, max: maksimum.

4.3. Romatoid Artrit Hastalarına Ait Klinik Verileri Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Romatoid Artrit hastalarına ait klinik veriler Çizelge 4.3'te verilmiştir. CCP pozitifliği her grup için ayrı verilmiştir. İlaç kullanımı bDMARD ve cDMARD kombine kullanımı veya cDMARD tek başına kullanılarak uygulanmış, hastalık gruplarının farklı olması nedeniyle standardize edilememiştir. Ağrılı ve şiş eklem sayısı DAS28 aktivite ölçeğinde etkili olan parametreler olduğundan klinik verilere dahil edilmiştir.

Çizelge 4.3. Romatoid Artrit hastalarına ait klinik verileri sonuçları

Parametre	Remisyon (n=25)	Düşük (n=25)	Orta- Ağır (n=30)
CCP pozitifliği (%)	50	45	55
İlaç kullanımı	5 bDMARD+cDMARD 20 cDMARD	9 bDMARD+cDMARD 16 cDMARD	12 bDMARD+cDMARD 18 cDMARD
Ağrılı eklem sayısı	-	2	12
Şiş eklem sayısı	-	2	11

CCP: anti-sitrülline edilmiş protein, bDMARD: biyolojik DMARD, cDMARD: konvansiyonel DMARD

4.4. Çalışma Gruplarına Ait ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarına ait ELISA parametrelerinin gruplar arasındaki karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir. IL-6 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla remisyon RA, düşük aktiviteli RA, orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Orta-ağır aktiviteli RA grubunda ise remisyon RA grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). TNF- α seviyelerinin ise, remisyon RA, düşük aktiviteli RA, orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Kallistatin seviyelerinin, kontrol grubuna kıyasla düşük aktiviteli ve orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmış ve orta-ağır aktiviteli RA grubunda remisyon RA grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). VEGF seviyelerinin orta-ağır aktiviteli RA grubunda, kontrol grubu, remisyon RA grubu ve düşük aktiviteli RA grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Çizelge 4.4. Çalışma gruplarına ait ELISA sonuçları

Parametre	Kontrol (n=25)	Remisyon (n=25)	Düşük (n=25)	Orta-Ağır (n=30)	p-değeri
IL-6 (pg/mL) Ortanca (min-max)	5,46 (4,89-9,99)	13,89 (7,39-20,61)	20,83 (11,18-26,77)	21,5 (16,18-34,72)	<0,001 ^{a,b,c,e}
TNF- α (pg/mL) Ortanca (min-max)	117,58 (102,61-122,5)	128,68 (124,17-136,97)	127,85 (119,85-138,53)	134,7 (124,4-165,45)	<0,001 ^{a,b,c}
Kallistatin (ng/mL) Ortanca (min-max)	42,3 (36,6-52,6)	57,15 (43,65-64)	60,8 (50,9-69,3)	69,35 (61,9-83,05)	<0,001 ^{b,c,e}
VEGF (pg/mL) Ortanca (min-max)	284,2 (179,9-353,6)	286,95 (192,9-339,55)	206,8 (160,3-396,9)	575,25 (284,35-736,5)	<0,001 ^{c,e,f}

*One Way ANOVA testi, a, b, c, e ve f ikili kıyaslamaları temsil etmektedir. a: Kontrol grubu ile remisyon hasta grubu arasındaki, b: Kontrol grubu ile Remisyon hasta grubu arasındaki, c: Kontrol ile orta-ağır hasta grubu arasındaki, e: Remisyon hasta grubu ile orta- ağır hasta grubu arasındaki, f: Düşük aktiviteli hasta grubu ile orta- ağır hasta grubu arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. IL-6: interlökin6, TNF- α :Tümör nekrozis faktör alfa, VEGF: vasküler endotelial büyüme faktörü, min: minimum, max: maksimum.

4.5. Çalışma Gruplarına Ait Oksidatif Stres Parametreleri Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarının oksidatif stres parametreleri yönünden karşılaştırılma sonuçları Çizelge 4.5’ de verilmiştir. TAS düzeyi çalışma grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermemişken, TOS ve OSI seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla düşük aktiviteli RA grubu ile orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). MDA düzeylerinin ise, orta-ağır aktiviteli RA hasta grubunda, kontrol grubu, remisyon RA ve düşük aktiviteli RA grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,001$).

Çizelge 4.5. Çalışma gruplarına göre oksidatif stres parametrelerinin sonuçları

Parametre	Kontrol (n=25)	Remisyon (n=25)	Düşük (n=25)	Orta-Ağır (n=30)	p-değeri
TAS (mmol Trolox/L) Ortanca (min-max)	1,16 (1,09-1,26)	1,21 (1,08-1,31)	1,11 (1,03-1,18)	1,07 (0,95-1,19)	0,055
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{L}$) Ortanca (min-max)	12,91 (12,04-14,33)	16,38 (12,57-20,98)	21,11 (14,65-22,86)	22,22 (20-23,13)	<0,001 ^{b,c,e}
OSI Ortanca (min-max)	1,12 (1,1-1,14)	1,49 (1,06-1,69)	1,8 (1,38-2,09)	2,01 (1,58-2,29)	<0,001 ^{b,c,e}
MDA (nmol/mL) Ortalama $\pm$ SS	3,58 $\pm$ 0,84	3,74 $\pm$ 1,17	4,36 $\pm$ 0,71	5,52 $\pm$ 1,7	<0,001 ^{c,e,f}

*One Way ANOVA testi, b, c, e ve f ikili kıyaslamaları temsil etmektedir. b: Kontrol grubu ile Remisyon hasta grubu arasındaki, c: Kontrol ile orta-ağır hasta grubu arasındaki, e: Remisyon hasta grubu ile orta-ağır hasta grubu arasındaki, f: Düşük aktiviteli hasta grubu ile orta-ağır hasta grubu arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: Malondialdehit, Min: Minimum, Max: Maksimum, SS: Standart sapma.

4.6. Çalışma Gruplarında Ait Demografik Veriler, Klinik Veriler ile ELISA Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri

Çalışma gruplarına ait demografik veriler, klinik veriler ile ELISA parametreleri arasındaki korelasyon analizleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. CRP düzeyleri ile sedimentasyon düzeyleri arasında pozitif yönde yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon ($r=0,731$ ve $p<0,001$); CRP düzeyleri ile IL-6, TNF- α , kallistatin düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,549$; $0,453$; $0,441$; $p<0,001$). CRP düzeyleri ile TAS düzeyleri arasında negatif yönde zayıf düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=-0,271$; $p=0,009$). CRP düzeyleri ile

TOS, OSI ve MDA düzeyleri arasında ise; pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,548$; $0,533$; $0,445$ $p<0,001$). Sedimentasyon düzeyleri ile IL-6, TNF- α , TOS düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,425$; $0,401$; $0,455$ ve $p<0,001$). Sedimentasyon düzeyleri ile, kallistatin, VEGF, OSI ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde orta düşük düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,353$; $0,295$; $0,378$; $0,338$ ve $p<0,001$; $0,004$).



Çizelge 4.6. Çalışma gruplarına ait demografik veriler ve klinik verilerin ELISA ve oksidatif stres parametreleri ile korelasyonu

Parametre		Yaş	CRP	Sedimentasyon
Yaş	r	1	0,05	0,084
	p	.	0,181	0,155
CRP	r	0,05	1	0,731**
	p	0,181	.	<0,001
Sedimentasyon	r	0,084	0,731**	1
	p	0,155	<0,001	.
IL-6	r	0,11	0,549**	0,425**
	p	0,294	<0,001	<0,001
TNF- α	r	0,082	0,453**	0,401**
	p	0,442	<0,001	<0,001
Kallistatin	r	0,174	0,441**	0,353**
	p	0,099	<0,001	0,001
VEGF	r	0,042	0,358**	0,295**
	p	0,688	<0,001	0,004
TAS	r	-0,002	-0,271	-0,187
	p	0,986	0,009	0,074
TOS	r	0,105	0,548**	0,455**
	p	0,319	<0,001	<0,001
OSI	r	-0,045	0,533**	0,378**
	p	0,669	<0,001	<0,001
MDA	r	-0,032	0,445**	0,338**
	p	0,759	<0,001	0,001

Spearman korelasyon testi analizi * p<0,05, ** p<0,01 temsil etmektedir. CRP: C-reaktif protein, IL-6: İnterlökin-6, TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: Malondialdehit.

4.7. Çalışma Gruplarına Ait Demografik Veriler, Klinik Veriler ile Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri

Çalışma gruplarına ait ELISA parametre düzeylerinin demografik veriler, klinik veriler ve oksidatif stres parametreleri ile ilişkili korelasyon analizi sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. IL-6 düzeyleri ile TNF- α , kallistatin, VEGF ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde düşük-orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır (sırasıyla; $r=0,313$; $0,279$; $0,263$; $0,242$ ve $p=0,003$; $0,007$; $0,011$; $0,02$). IL-6 düzeyleri ile TOS ve OSI düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,509$; $0,42$ ve $p<0,001$). TNF- α düzeyleri ile kallistatin ve OSI düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,408$; $0,441$ ve $p<0,001$). TNF- α düzeyleri ile VEGF ve TOS düzeyleri arasında pozitif yönde düşük orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,326$; $0,359$ ve $p=0,002$; $<0,001$).

Çizelge 4.7. Çalışma gruplarına ait ELISA parametrelerinin, demografik, klinik veriler ve oksidatif stres parametreleri ile korelasyonu

Parametre		IL-6	TNF- α	Kallistatin	VEGF
Yaş	r	0,11	0,082	0,174	0,042
	p	0,294	0,442	0,099	0,688
CRP	r	0,05	0,453**	0,441**	0,358**
	p	0,181	<0,001	<0,001	<0,001
Sedimentasyon	r	0,084	0,401**	0,353**	0,295**
	p	0,155	<0,001	0,001	0,004
IL-6	r	1	0,313**	0,279**	0,263*
	p	.	0,003	0,007	0,011
TNF- α	r	0,313**	1	0,408**	0,326**
	p	0,003	.	<0,001	0,002
Kallistatin	r	0,279**	0,408**	1	0,171
	p	0,007	<0,001	.	0,105
VEGF	r	0,263*	0,326**	0,171	1
	p	0,011	0,002	0,105	.
TAS	r	-0,059	-0,012	-0,106	-0,096
	p	0,574	0,914	0,317	0,362
TOS	r	0,509**	0,359**	0,429**	0,407**
	p	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
OSI	r	0,42**	0,441**	0,333**	0,481**
	p	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
MDA	r	0,242*	0,09	0,373**	0,287**
	p	0,02	0,404	<0,001	0,006

Spearman Korelasyon testi analizi * p<0,05, ** p<0,01 temsil etmektedir. CRP: C-reaktif protein, IL-6: Interlökin-6, TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: Malondialdehit

4.8. Çalışma Gruplarında ELISA Parametreleri İle Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizleri

Çalışma gruplarına ait ELISA parametre düzeylerinin demografik veriler, klinik veriler ve oksidatif stres parametreleri ile ilişkili korelasyon analizi sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Kallistatin düzeyleri ile TOS düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,429$ ve $p<0,001$). Kallistatin düzeyleri ile OSI ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı düzeyde düşük-orta derecede korelasyon saptanmıştır ($r=0,333$; $0,373$ ve $p=0,001$; $<0,001$). VEGF düzeyleri ile, TOS ve OSI düzeyleri arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon ($r=0,407$; $0,481$ ve $p<0,001$); VEGF ile MDA düzeyleri arasından pozitif yönde düşük düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ($r=0,287$; $p=0,006$).

Çizelge 4.8. Çalışma gruplarına ait oksidatif stres parametreleri ELISA parametre düzeylerinin demografik veriler, klinik veriler ve ile ilişkili korelasyon

Parametre		TAS	TOS	OSI	MDA
Yaş	r	-0,002	0,105	-0,045	-0,032
	p	0,986	0,319	0,669	0,759
CRP	r	-0,271	0,548**	0,533**	0,445**
	p	0,009	<0,001	<0,001	<0,001
Sedimentasyon	r	-0,187	0,455**	0,378**	0,338**
	p	0,074	<0,001	<0,001	0,001
IL-6	r	-0,059	0,509**	0,42**	0,242*
	p	0,574	<0,001	<0,001	0,02
TNF- α	r	-0,012	0,359**	0,441**	0,09
	p	0,914	0,001	<0,001	0,404
Kallistatin	r	-0,106	0,429**	0,333**	0,373**
	p	0,317	<0,001	0,001	<0,001
VEGF	r	-0,096	0,407**	0,481**	0,287*
	p	0,362	<0,001	<0,001	0,006
TAS	r	1	0,354**	0,308*	-0,354**
	p	.	0,001	0,003	0,001
TOS	r	-0,016	1	0,752**	0,308*
	p	0,879	.	<0,001	0,003
OSI	r	-0,388**	0,752**	1	0,354**
	p	<0,001	<0,001	.	0,001
MDA	r	-0,354**	0,308*	0,354**	1
	p	0,001	0,003	0,001	.

Spearman Korelasyon testi analizi * p<0,05, ** p<0,01 temsil etmektedir. CRP: C-reaktif protein, IL-6: Interlökin-6, TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: Malondialdehit.

4.9. Çalışma Gruplarında Multinomial Regresyon Modeli Analizi

Çalışma gruplarının multinomial regresyon modeli analizi sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir. İlgili model, kontrol grubu referans alınarak çalışma parametrelerinin kontrol grubuna kıyasla hastalık gruplarında, kat düzeyindeki farklılık miktarının tahmini ifadesinin yapılabilmesi için kurulmuştur. TNF- α , IL-6 ve OSI parametreleri, kontrole kıyasla remisyon RA, düşük aktiviteli RA ve orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,003$; $<0,001$; $<0,001$). Kallistatin ve MDA parametreleri, düşük aktiviteli RA ve orta-ağır aktiviteli RA gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,035$; $<0,001$ ve $p=0,039$; $<0,001$). VEGF ise orta-ağır aktiviteli hastalık grubunda kontrol grubu, remisyon RA ve düşük aktiviteli RA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p=<0,001$).

Çizelge 4.9. Çalışma gruplarında multinomial regresyon modeli analizi sonuçları

Parametre	Kallistatin* n=105	TNF- α n=105	IL-6 n=105	OSI* n=105	MDA n=105	VEGF* n=105
Kontrol (n=25)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)	1 (ref)
Remisyon (n=25)	1,525	1,137**	4,806*	4,362*	1,179	1,102
	(0,595-3,904)	(1,043-1,238)	(1,365-16,927)	(1,093-17,405)	(0,563-2,47)	(0,501-2,424)
	$p=0,379$	$p=0,003$	$p=0,015$	$p=0,037$	$p=0,662$	$p=0,081$
Düşük (n=25)	2,683*	1,149**	10,06**	8,679**	2,078*	0,989
	(1,074-6,7)	(1,055-1,25)	(2,681-37,739)	(2,209-34,099)	(1,038-4,159)	(0,457-2,139)
	$p=0,035$	$p<0,001$	$p=0,001$	$p=0,002$	$p=0,039$	$p=0,977$
Orta-Ağır (n=30)	5,558**	1,167**	20,078**	15,058**	4,191**	4,047**
	(2,193-14,088)	(1,073-1,269)	(5,193-77,628)	(3,843-59,01)	(2,025-8,673)	(1,854-8,833)
	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$

*Parametreler sürekli değişken olarak modellenmiştir (1 SD log-dönüştürülmüş parametre). Yaş, cinsiyet ve CCP'ye göre ayarlanmış çok terimli regresyon modeli. *Parametreler sürekli değişken olarak modellenmiştir (1 SD log-dönüştürülmüş parametre). **OSI sürekli bir değişken olarak modellenmiştir (1 SD dönüştürülmüş parametre). *Korelasyon <0.05 düzeyinde anlamlıdır. ** Korelasyon <0.01 düzeyinde anlamlıdır. TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa, IL-6: İnterlökin-6, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: Malondialdehid. Spearman korelasyon analizi.

4.10. Çalışma Gruplarında Serum Kallistatinin Tek Değişkenli ve Çok Değişkenli Korelasyonları

Serum kallistatinin biyokimyasal parametrelerle korelasyonunun iyi anlaşılabilmesi amacıyla çeşitli korelasyon modelleri oluşturulmuştur. Demografik veriler, klinik veriler, oksidatif stres belirteçleri ve inflamatuvar belirteçler ile serum kallistatin seviyelerinin tek ve çok değişkenli korelasyon analizi sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Korelasyon tek değişkenli olarak serum kallistatin düzeyinde kurulduğunda kontrol grubu ile orta-ağır aktiviteli RA grubu arasında, TOS, OSI, MDA, TNF- α , CRP ve ESH parametreleri ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde korelasyon saptanmıştır ($p < 0,001$). Çok değişkenli iki korelasyon modeli kurulmuştur. Örneklem üzerinde Model 1'de gruplar arası fark, Model 2'de ise gruplar arası fark ile birlikte cinsiyet değişkenleri gözetilerek korelasyon analizleri yapılmıştır. Kurulan modellerin sonucunda; Model 1'de serum kallistatinin gruplar arasındaki farktan bağımsız olarak kontrol grubuna kıyasla orta-ağır aktiviteli RA hasta grubunda (OR=2,467 ve $p = 0,041$) ve aynı zamanda cinsiyet değişkeni ile anlamlı korelasyon gösterdiği (OR=1,719 ve $p = 0,02$) saptanmıştır. Model 2'de ise gruplar arasındaki fark ile birlikte cinsiyet değişkeninden de bağımsız olarak, serum kallistatinin kontrol grubuna kıyasla orta-ağır aktiviteli RA hasta grubunda anlamlı korelasyon değerlerini (OR=3,425 ve $p < 0,001$) koruduğu saptanmıştır.

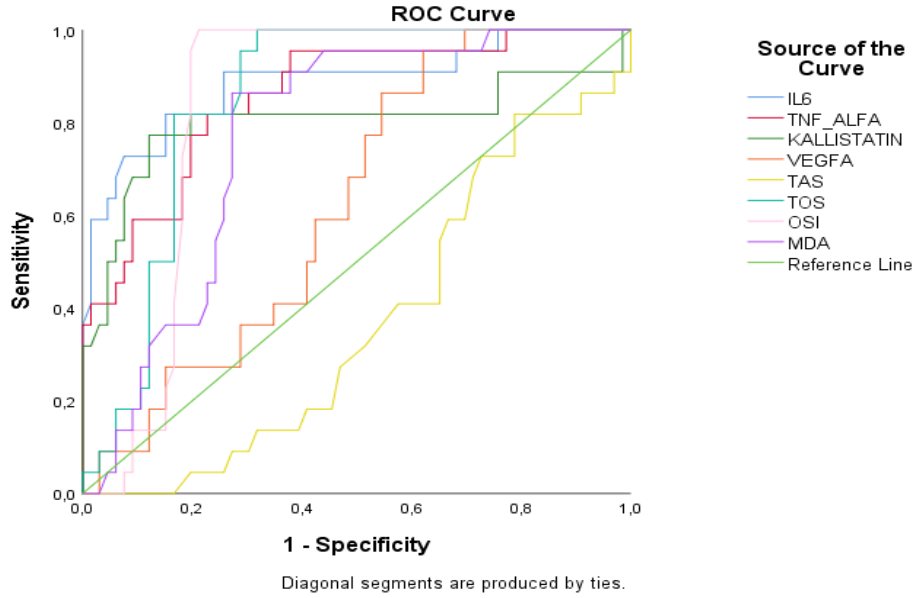
Çizelge 4.10. Çalışma gruplarında serum kallistatinin demografik veriler, klinik veriler, oksidatif stres belirteçleri ve inflamatuvar belirteçler ile tek değişkenli ve çok değişkenli korelasyonları

Parametre	Bivariate correlations		OR	Model 1 CI (%95)	p-değeri	OR	Model 2 CI (%95)	p-değeri
	r	p-değeri						
# Grup	0,514	<0,001	2,467	(1,037-5,866)	0,041	3,425	(2,17-5,407)	<0,001
Yaş	0,174	0,099	1,013	(0,995-1,030)	0,151	1,011	(0,994-1,029)	0,193
Cinsiyet	0,202	0,055	1,719	(1,089-2,713)	0,02	1,614	(0,938-2,779)	0,084
TAS	-0,106	0,317						
TOS I	0,429	<0,001						
OSI I	0,333	<0,001	1,106	(0,751-1,628)	0,61			
MDA	0,373	<0,001	1,093	(0,946-1,262)	0,229			
VEGF I	0,109	0,302						
TNF- α	0,408	<0,001	1,004	(0,996-1,012)	0,345			
IL-6 I	0,279	0,007	0,91	(0,719-1,151)	0,429			
CRP	0,441	<0,001	0,992	(0,984-1)	0,062			
ESH I	0,353	0,001	1,222	(0,947-1,576)	0,123			
CCP	0,175	0,098	0,915	(0,613-1,366)	0,665			

*Cinsiyet kukla değişken olarak kodlanmıştır; 1= Kadın ve 2= Erkek. # Grup 1=kontrol, 2=remisyon,3=düşük ve 4=orta-şiddetli olmak üzere kukla değişken olarak kodlandı. o 1 SD log-analizden önce dönüştürüldü. Tüm tek oranlar, Model 1 için ayarlama yapıldıktan sonra gösterilir: Grup, Yaş, Cinsiyet, OSI, MDA, TNFa, IL-6, CRP, ESR ve CCP. Model 2: Grup, Yaş ve Cinsiyet. Çoklu regresyon modelindeki grup, Grup 4 ve Grup 1 için gösterilmiştir. TAS: Total antioksidan status, TOS: total oksidan status, OSI: Oksidatif stres indeksi, MDA: malondialdehit, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa, IL-6: İnterlökin 6, CRP: C-reaktif protein, ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı CCP: anti-sitrülenmiş antikor

4.11. Çalışma Gruplarında ROC Analizi

Hasta gruplarında yapılan ROC analizi şekil 4.1’de verilmiştir. RA hastalarında IL-6, TNF- α , kallistatin, VEGF, TAS, TOS, OSI ve MDA parametrelerinin tanısal etkinliğini test etmek için ROC analizi yapılmıştır. ROC analizi sonucunda, eğrinin altında kalan alan (EAA); IL-6 için 0,886; TNF- α için 0,857; kallistatin için 0,801; TOS için 0,835; OSI için 0,849; MDA için 0,77 olarak tespit edilmiş (tüm değerler için $p<0,001$), VEGF ve TAS için uygun anlamlılık ve EAA tespit edilmemiştir.



Şekil 4.1. Çalışma gruplarında ROC analizi sonuçları

ROC analizinin sonuçları Çizelge 4.11’de kesim değeri, duyarlılık, özgüllük, p değeri olarak verilmiştir. IL-6 $\geq 7,039$ kesim değeri için duyarlılık 0,818, özgüllük 0,818; TNF- $\alpha \geq 122,85$ kesim değeri için duyarlılık 0,818 ve özgüllük 0,773; kallistatin ≥ 53 kesim değeri için duyarlılık 0,818 ve özgüllük 0,803; TOS $\geq 1,185$ için duyarlılık 0,955 ve özgüllük 0,803; OSI $\geq 15,97$ için duyarlılık 0,864 ve özgüllük 0,712; MDA $\geq 3,985$ için duyarlılık 0,864 ve özgüllük 0,727 olarak hesaplanmıştır ($p<0,001$).

Çizelge 4.11. Hasta gruplarında ROC analizi sonuçları

Parametre	Kesim değeri	Duyarlılık	Özgüllük	ROC Eğrisi EAA	<i>p</i> değeri
IL-6	7,039	0,818	0,818	0,886 (0,795-0,978)	<0,001
TNF-α	122,85	0,818	0,773	0,857 (0,768-0,946)	<0,001
Kallistatin	53	0,818	0,803	0,801 (0,662-0,94)	<0,001
TOS	1,185	0,955	0,803	0,835 (0,749-0,92)	<0,001
OSI	15,97	0,864	0,712	0,849 (0,77-0,927)	<0,001
MDA	3,985	0,864	0,727	0,77 (0,67-0,87)	<0,001

Alıcı İşletim Karakteristiği (Receiver Operating Characteristic, ROC) analiz. IL-6: İnterlökin6 TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa, TOS: Total oksidan status OSI: Oksidatif stres indeksi MDA: Malondialdehit

5. TARTIŞMA

Romatoid Artrit, kronik inflamasyon ve eklem hasarıyla karakterize otoimmün bir inflamatuvar artrit (Smolen ve ark, 2017). Mevcut çalışmada, literatürde ilk defa hastalık aktivitesine göre gruplara ayrılmış olan RA hastalarında serum kallistatin düzeyleri ile proanjiyogenik bir markır olan VEGF, proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α , oksidatif stres parametreleri olan TAS, TOS ve OSI ile lipid peroksidasyon düzeyi göstergesi olan MDA düzeyleri çalışılmıştır.

Romatoid Artrit, yaygın bir inflamatuvar artrit türü olup 30-65 yaşları arasındaki bireylerde daha sık görülmektedir. Bununla birlikte RA hastalığında cinsiyete bağlı görülme sıklığının erkek cinsiyete göre kadın cinsiyette 2-5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Entezami ve ark, 2011; Smolen ve ark, 2017; Boissier ve ark, 2020). Aslanalp ve ark. tarafından 2020 yılında sağlıklı bireyler ile RA hastaları arasında yapılan bir çalışmada, kadın/erkek hasta oranı 2 ve yaş ortalaması 51,1 yıl olarak bulunmuştur (Aslanalp ve ark, 2020). Yapılan başka bir çalışmada RA hastalığının kadınlarda erkeklere göre 4,5 kat yüksek ve hastalarda yaş ortalamasının 25-64 yıl aralığında olduğu bulunmuştur (Rabab ve ark, 2022). Mevcut çalışmada literatürde yapılmış olan çalışmalara benzer şekilde hasta gruplarında yaş ortalaması 45-50 yıl aralığında ve hastalığın kadınlarda erkeklere kıyasla 4 kat fazla olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

Romatoid Artrit hastalığının rutin tanı ve takibinde kullanılan biyokimyasal parametrelerinden olan CRP ve ESH'nin, ACR ve EULAR tarafından hastalık aktivitesi ayırmaksızın kullanılması önerilmektedir (Wells ve ark, 2011; England ve ark, 2019). 2010 yılında yayınlanan serum akut faz yanıt parametrelerinin RA hastalarında incelendiği bir çalışmada serum CRP ve ESH seviyeleri RA hastalarında, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Cylwik ve ark, 2010). Yine yapılan başka bir çalışmada RA hastalarında sinoviyum biyopsisinin inflamasyon düzeyleri ile CRP ve ESH düzeyleri arasında korelasyon olduğu bulunmuştur (Orr ve ark, 2018). Çalışmamızda beklendiği gibi aktif hastalığı olan bireylerde rutin inflamatuvar parametrelerin sağlıklı bireylere ve aktif hastalığı olmayan remisyon ve düşük aktiviteli RA hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü (Çizelge 4.2). Bununla birlikte Rajael ve arkadaşları tarafından 2020 yılında yapılan kesitsel çalışmada, ACR/EULAR 2010

kriterlerine göre tanı alan 120 hasta, DAS28 aktivite skorlamasına göre remisyon, hafif, orta ve şiddetli olacak şekilde dört grup halinde gruplandırılmıştır. CRP, ESH, anti-CCP ve RF serum seviyeleri ölçülmüş, bu parametreler hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. ESH ve CRP'nin hastalık aktivitesi ile ilgili bilgi verdiği ve aynı zamanda ESH düzeylerinin ağırlı eklem sayısı ve şiş eklem sayısı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rajael ve ark, 2020). Mevcut çalışmada da, ağırlı ve şiş eklem sayıları literatürle uyumlu olarak hastalık aktivitesine göre arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Romatoid Artrit, patogenezinde proinflamatuvar sitokinlerin önemli rol oynadığı romatolojik bir hastalıktır. Literatürde daha önce yapılmış olan birçok çalışmada proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ile TNF- α 'nın RA hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla ve yine aktif hastalığı olan kişilerde remisyonunda olan hastalara ve düşük aktiviteli hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdiği ortaya konmuştur (Hirano ve Kashimoto, 1986; McInnes ve ark, 2007; Tanaka ve ark, 2018; Rajael ve ark, 2020; Kim ve ark, 2020; Lama ve ark, 2023; Ercan ve ark, 2023). Mevcut çalışmada, serum IL-6 ve TNF- α seviyeleri kontrol grubuna göre kıyaslandığında remisyon RA, düşük aktiviteli RA ve orta-ağır aktiviteli RA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar ışığında proinflamatuvar sitokinlerin RA patogenezindeki rolü bir kez daha ortaya konmuştur (Çizelge 4.4).

Vasküler endotelial büyüme faktörü, anjiyogeneze, endotel hücrelerinin göçü ile çoğalmasında ve yara iyileşmesinde rol oynamaktadır (Kowanetz ve ark, 2006). VEGF, endotel hücreleri, fibroblastlar, T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen en güçlü anjiyogenik faktörlerden biridir (Zhang ve ark, 2024). VEGF'nin RA, sistemik lupus eritematozus (SLE), multiple sklerozis (MS) gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Blank ve ark, 2007; Zhang ve ark, 2024). VEGF tarafından indüklenen anjiyogenezin, RA hastalarında inflamatuvar yolların düzenlenmesinde ve ayrıca pannus oluşturmada önemli bir rol oynadığı yapılan çalışmada gösterilmiştir (Zhang ve ark, 2024). Ballara ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, VEGF düzeylerinin RA hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ve hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ballara ve ark, 2001). Yine yapılan başka bir çalışmada RA hastalarında VEGF'nin aşırı ekspresyonunun hastalık aktivitesi, inflamatuvar değişiklikler, eklemlerdeki hasar ve anjiyogeneze ile ilişkili olduğu

söylenmiştir (Nam ve ark, 2005). Ozgonenel ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada VEGF ekspresyon düzeyi, RA hastalarının serumunda ve sinoviyal sıvıda osteoartrit hastalarına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (Ozgonenel ve ark, 2010). 2020 yılında yapılan anjiyogenik sitokinlerin araştırıldığı bir çalışmada, RA hastalarında VEGF istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ve sinovit şiddeti ile de korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Kim ve ark, 2020). RA hastalarında sitokinlerin etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise, RA hastalarında VEGF kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (Ercan ve ark, 2023). RA hastalarında serum düzeylerinin ELISA yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada VEGF düzeyi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ayrıca ilgili çalışmada VEGF ile hastalık aktivite indeksleri ile pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır (Boldeanu ve ark, 2023). Mevcut çalışmada, serum VEGF düzeyleri, orta-ağır aktiviteli RA gruplarında kontrol, remisyon RA ve düşük aktiviteli RA gruplarına kıyasla yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.4). Tüm bu veriler beklendiği gibi VEGF'nin hastalık patogenezinde rol oynayan anjiyogenik bir belirteç olduğunu tekrar ortaya koymuştur.

Literatürde kallistatin düzeylerinin otoimmün hastalıklarda çalışıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. 2020 yılında yayınlanan bir çalışmada, otoimmün üveit modelinin deneysel olarak oluşturulduğu farelerde, kallistatinin T hücrelerinin aktivasyonunu engelleyerek deneysel otoimmün üveiti azalttığı belirtilmiştir (Muhammad ve ark, 2020). Yine benzer şekilde farelerde oluşturulan deneysel otoimmün üveit modelinde ise kallistatinin T hücre farklılaşmasında rol oynadığı gösterilerek otoinflamasyonun ana düzenleyicisi olabileceği öne sürülmüştür (Chen ve ark, 2021). Romatolojik ve otoimmün bir hastalık olan SLE hastalarında yapılan bir çalışmada ise serum kallistatin düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği gösterilmiştir (Sahiloğulları, 2024). Bununla birlikte RA hastalarında kallistatin düzeylerinin incelendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Wang ve arkadaşları tarafından ratlarda yapılan çalışmada profilaktik adenovirüs aracılı insan kallistatin gen terapisinin, anjiyogenezi ve inflamasyonu inhibe ederek deneysel olarak oluşturulmuş olan artriti baskılayabileceği öne sürülmüştür (Wang ve ark, 2005). Yapılan başka bir çalışmada osteoartrit ve RA hastalarından elde edilen plazma, eklem sıvısı ve sinoviyal doku örneklerinde kallistatin düzeyleri çalışılmıştır. RA'lı hastalarda dolaşımda ve eklem sıvısında kallistatin düzeylerinin yükseldiği belirtilmiştir.

Ayrıca immünohistokimyasal analiz sonucunda mononükleer hücrelerde ve fibroblast benzeri sinoviyositlerinde hücre içi kallistatin seviyelerinin anlamlı derecede artış gösterdiği bulunmuştur (Wang ve ark, 2007). Benzer şekilde farelerde sırasıyla IL-1 β ve ısıyla inaktive edilmiş Mycobacterium tuberculosis kullanılarak in vitro ve in vivo RA modellerinin oluşturulduğu bir çalışmada kallistatinin RA'ya karşı koruyucu rolü araştırılmıştır. Kallistatin tedavisi uygulanan RA hastalığı olan farelerde PGE2, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmış ve histokimyasal olarak hastalık şiddetine bakılmıştır. Kallistatinin IL-1 β aracılı kondrosit apoptozunu hafiflettiği, IL-1 β aracılı inflamasyonu belirgin şekilde inhibe ederken, β yoluyla inflamatuvar faktörlerin ve araçların düzeylerini azalttığı gösterilmiş ve ayrıca kallistatin ile tedavi edilen sıçanların, kontrol farelerine kıyasla RA şiddetinin azaldığı ortaya konmuştur (Wang ve ark, 2023). Mevcut çalışmada ise, literatürde ilk defa hastalık aktivitesine göre gruplara ayrılan RA hastalarında serum kallistatin düzeyleri bakılmış, kallistatinin RA hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ve aktif hastalığı olan gruplarda remisyon ve düşük aktiviteli hastalara kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.4) ($p<0,001$).

Oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması RA patofizyolojisinde etkili olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, RA patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını desteklemektedir. Oksidatif stres artışı, hücrelerdeki serbest radikal ve ROS aşırı üretimi ve antioksidan savunma mekanizmalarının bozulması ile gerçekleşmektedir (Mititelu ve ark, 2020). Literatürde RA hastalarında oksidatif stres belirteçlerinin çalışıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Oksidatif stres belirteci olan TAS ve TOS ile iki belirtecin birbirine bölümü ile elde edilen ve oksidan hasarın çok iyi bir göstergesi olan OSI değeri, 2012 yılında Esen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada RA hastalarında serum düzeyinde bakılmıştır. İlgili çalışma sonuçlarına göre, RA hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla TAS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış, TOS düzeyleri artmış ve OSI ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. (Esen ve ark, 2012). Yapılan başka bir çalışmada ise aktif hastalığı olan RA hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla TOS ve OSI düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı, TAS düzeylerinin ise anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir (Zhou ve ark, 2017). Anmar ve arkadaşları tarafından RA patogenezinde oksidan hasarın etkisinin incelendiği çalışmada RA hasta gruplarında serum TOS seviyesinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı

düzeyde yükseldiği gösterilmiş ve RA tanısında belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Anmar ve ark, 2023). Mevcut çalışmada, TAS düzeyleri hastalık aktivitesi ile azalmış ancak gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemişken, oksidan hasar belirteci olan TOS ve OSI hasta gruplarında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.5) ($p<0,001$). Literatürde yapılan çalışmalara benzer şekilde oksidan hasarın hastalık patogenezinde rol oynadığı tekrar ortaya konmuştur.

Lipid peroksidasyonu, lipidlerin yapısında bulunan doymamış moleküllerin, özellikle de doymamış çift bağ içeren yağ asitlerinin yükseltgenmesi ile gerçekleştirilmektedir. Lipid peroksidasyonu lipidden koparılan bir serbest lipid radikali oluşumu ile başlamaktadır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Serum MDA düzeyi ise oksidatif stres durumunun güvenilir bir biyolojik belirteçidir (Merino de Paz ve ark, 2024). Chaturvedi ve arkadaşları RA hastalarının yapılan serum ve sinoviyal sıvıdaki MDA düzeylerinin kontrol grubu ve osteoartrit hasta gruplarına kıyasla yüksek olduğunu söylemiştir (Chaturvedi ve ark, 1999). Yapılan başka bir çalışmada RA hasta grubunda MDA düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı şekilde artış gösterdiği ve aktif hastalığı olan RA grubunda inaktif hastalığı olanlara kıyasla daha yüksek MDA düzeylerinin görüldüğü belirtilmiştir (Başkol ve ark, 2005). Bununla birlikte bir diğer çalışmada yine RA hasta grubunda serum MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş, RA tanısında duyarlı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Anmar ve ark, 2023). Mevcut çalışmada, lipid peroksidasyonu belirteci olan serum MDA seviyelerinin de orta-ağır hasta gruplarında, kontrol, remisyon RA, düşük aktiviteli RA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5) ($p<0,001$).

İnflamatuar belirteçlerden olan CRP ve ESH düzeyleri RA hastalığının tanı ve takibinde çok önemli rol oynayan rutin laboratuvar parametreleridir. Mevcut çalışmada beklendiği gibi CRP düzeyleri ile sedimantasyon düzeyleri arasında pozitif yönde yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon ($r=0,731$ ve $p<0,001$) bulunmuştur. Ayrıca CRP ve ESH ile proinflamatuar sitokinler, TOS, OSI ve MDA arasında pozitif yönde düşük ve orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır (Çizelge 4.6). Ayrıca IL-6 düzeyleri ile TNF- α , TOS, OSI ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde düşük ve orta düzeyde, TNF- α düzeyleri ile TOS ve OSI arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel

olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır. Belirtilen sonuçlar RA hastalığı patogenezinde inflamatuvar ve oksidatif yolların birlikte rol oynadığını ve ayrıca rutin takip parametreleri olan CRP ve ESH ile proinflamatuvar ve oksidatif yolla ilgili belirteçler arasındaki sıkı bağlantıyı bir kez daha ortaya koymuştur.

Mevcut çalışmada VEGF düzeyleri ile proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α ile CRP, ESH, TOS, OSI ve MDA arasında pozitif yönde düşük veya orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar ışığında, RA hastalığının patogenezinde rol oynayan anjiyogenezden sorumlu olan sitokinlerden biri olan VEGF'nin inflamatuvar ve oksidatif stres yolları ile ilişkili olabileceği ve bu yolların hastalık süreçlerinde birlikte rol oynayabileceği söylenebilir.

Serum kallistatin düzeyleri ile proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-6, oksidan hasar göstergesi olan TOS, OSI ve lipid peroksidasyonunun önemli göstergesi olan MDA düzeyleri arasında düşük ve orta düzeyde pozitif yönde korelasyon olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6, 4.7 ve 4.8). Daha önce yapılan çalışmalarda RA hastalığında kallistatin uygulamasının hastalarda özellikle eklem hasarını azaltıcı yönde ve inflamasyonu baskılayıcı etki gösterdiği belirtilmiştir (Wang ve ark, 2023). Tüm bu veriler ışığında kallistatinin inflamatuvar ve oksidatif yollar ile ilişkili olabileceği söylenebilir. Ayrıca RA hastalarında kallistatin düzeylerinin inflamasyonu ve oksidan hasarı azaltmak için artış gösterdiği ancak bu artışın yeterli düzeyde olmadığı ileri sürülebilir.

Kallistatinin RA hastalarında yeni bir biyobelirteç olarak kullanımı ile ilgili olarak çeşitli istatistiksel analizler yapılmıştır. Yapılan multinominal regresyon analizinin sonuçlarına göre, serum kallistatin değerlerinin hastalık aktivitesinde ortaya çıkan değişimler ile artış göstermesinin beklenmesi, aktivite bazında belirteç olarak değerlendirilebileceği yorumunu desteklemektedir (Çizelge 4.9). Ayrıca tek değişkenli ve çok değişkenli regresyon modelleri analizlerinin sonucunda, kontrol ve orta-ağır aktiviteli RA hasta grubu arasında anlamlı farklılık saptanmış ve bu sonuçlar aktif inflamasyon varlığında serum kallistatinin RA hastalığı için biyobelirteç olabileceğini yine desteklemektedir (Çizelge 4.10). Belirtilen istatistiksel çalışmalara ek olarak mevcut çalışmada ROC analizi yapılmıştır. ROC analizi tanı testlerinin önemini göstermektedir. ROC analizi ile ideal kesim değerleri belirlenmiş, kesim değerlerine bağlı olarak duyarlılık ve özgüllük değerleri hesaplanmıştır. ROC analizinin sonucunda, inflamatuvar markırlar olan

IL-6 ve TNF- α , oksidatif stres markırlarından TOS, OSI ve lipid peroksidasyonu belirteci olan MDA için EAA değerleri yüksektir ve anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.11). Çalışmada yeni parametre olarak kullanılan kallistatin 53 kesim değerine göre özgüllük %81,8 ve duyarlılık %80,3 olarak hesaplanmış, EAA 0,801 olarak görülmüştür (Çizelge 4.11). Bütün bu sonuçlar ışığında özellikle aktif inflamasyonu olan orta-ağır aktiviteli RA hasta gruplarında kallistatinin tanı testi olarak kullanılabileceği ne sürülebilir.

Mevcut çalışmada bazı kısıtlılıklar dikkati çekmiştir. Özellikle btce kısıtlılığı ve yaşıanan 6 Şubat depremi nedeniyle yeterli sayıda RA hastası (ek hastalığı bulunmayan) çalışmaya dahil edilememiştir. Hastalar, farklı hastalık aktiviteleri gösterdiğinden ilaç kullanımı standardize edilememiştir.

6. SONUÇ

1. Literatürde ilk defa hastalık aktivitesine göre ayrılan RA hastalarında serum kallistatin düzeyleri ile proanjiyogenik bir markır olan VEGF, proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve TNF- α , oksidatif stres parametreleri olan TAS, TOS ve OSI ile lipid peroksidasyon düzeyi göstergesi olan MDA düzeyleri çalışıldı.
2. Elde edilen sonuçlar ışığında kallistatinin RA hastalığı patogenezinde görev yapan bir belirteç olduğu söylenebilir.
3. Mevcut çalışma sonuçlarına göre RA hastalığının patogenezinde inflamasyon ve oksidatif stresin çok önemli bir rol oynadığını tekrar gösterilmiştir.
4. RA hastalarında yapılan ROC analizi sonuçlarına göre kallistatin için EAA değeri 0.801 olarak bulunmuştur. Yapılan ROC analizi, rutin parametreler olan CRP ve sedimantasyon ile olan korelasyonu ve multinominal regresyon analizi sonuçlarına göre özellikle aktif hastalık öngörüsünde kallistatinin çok önemli bir belirteç olabileceği söylenebilir.
6. Sonuç olarak RA patogenezinde görev yapan farklı yolaklar ve bu yolaklarda görev yapan belirteçler mevcuttur. Elde edilen sonuçlarımıza göre kallistatinin RA patogenezinde oksidatif ve inflamatuvar yolaklar ile birlikte rol oynayan bir belirteç olabileceği söylenebilir.
7. Ancak kallistatinin RA hastalığı patogenezindeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için daha geniş hasta gruplarında yapılacak olan yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. **Aksu M, Öney B.** Romatoid artritte uygulanan beslenme tedavilerinin etkileri. *Curr Perspect Health Sci.* **2023**;4(3): 96-103.
2. **Aletaha D, Smolen JS.** Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review. *Jama*, **2018**; 320(13), 1360-1372.
3. **Alivernini S, Firestein GS, McInnes IB.** The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, **2022**;55(12), 2255-2270.
4. **Ångström L, Hörnberg K, Sundström B, Södergren A.** Rheumatoid cachexia in early rheumatoid arthritis: prevalence and associated variables. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, **2020**;52(1), 10–16.
5. **Anmar hameed bloh, Mustafa Faek khamis, Ayat Abd-Aljaleel Altekrety, Yasser Fakri Mustafa, Haider Abdulkareem Almashhadani, Mustafa M. Kadhim** Total Oxidants, Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity in the Serum of Rheumatoid Arthritis Patients. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, **2022**, 13(3), 231-235.
6. **Aslanalp, Z., Tikiz, C., Ulusoy, A., Orguc, Ş., Bİlgİ Yedekci, A., & Ulman, C.** The Relationship Between Serum Angiogenic Factor Levels and Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *Archives of rheumatology*, **2020**, 35(3), 416–425.
7. **Ballara, S. et al.** Raised serum vascular endothelial growth factor levels are associated with destructive change in inflammatory arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, **2001**, 44.9: 2055-2064.
8. **Baskol, G. et al.** Assessment of paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical biochemistry*, **2005**, 38.10: 951-955.
9. **Benjamin O, Goyal A, Lappin SL.** Disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARD). **2018**.
10. **Blank, M., Beinglass, I., & Shoenfeld, Y.** The therapeutic potential of targeting anti-Ribosomal-P antibody in treating SLE patients with depression. *Expert Opinion on Biological Therapy*, **2007** ;7(9), 1283-1285.
11. **Bodkhe R, Balakrishnan B, Taneja V.** The role of microbiome in rheumatoid arthritis treatment. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. **2019**;11.
12. **Boissier MC, Biton J, Semerano L, Decker P, Bessis, N.** Origins of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, **2020**;87(4), 301-306.
13. **Boldeanu MV, Boldeanu L, Cristea OM, Ciobanu DA, Poenariu SI, Dijmărescu AL et al.** MMP-13, VEGF, and Disease Activity in a Cohort of Rheumatoid Arthritis Patients. *Diagnostics*, **2023**;13(9), 1653.
14. **Boz, M., Ülgen, E., Ergüney, M., Ünalın, N., & Pişkinpaşa, E.** Romatoid artrit eklemler dışı belirtiler. *İstanbul Tıp Dergisi*, **2006**; 1, 26-31.
15. **Bozbulut R, İşgüzar Y, Akbulut G.** Romatolojik ve Kemik Eklemler Hastalıklarında Tıbbi Beslenme Tedavisi. Editör: Akbulut, G. Tıbbi Beslenme Tedavisinde Güncel Uygulamalar. Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitabevleri; **2019**:300-378.
16. **Brzustewicz, E., Bzoma, I., Daga, A., Szarecka, M., Bykowska, M. S., Witkowski, J. M., & Bryl, E.** Heterogeneity of the cytokinome in undifferentiated arthritis progressing to rheumatoid arthritis and its change in the course of therapy. Move toward personalized medicine. *Cytokine*, **2017**; 97, 1-13.
17. **Bustamante MF, Agustín-Perez M, Cedola F, et al.** Design of an anti-inflammatory drug (ITIS drug) for patients with rheumatoid arthritis. *Contemporary clinical trials communications*. **2020**;17:100524.
18. **Cantaert T, Brouard S, Thurlings RM, Pallier A, Salinas GF, Braud C, et al.** Alterations of the synovial T cell repertoire in anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, **2009**;60(7), 1944-1956.
19. **Chai KX, Chen LM, Chao J, Chao L.** Kallistatin: a novel human serine proteinase inhibitor. Molecular cloning, tissue distribution, and expression in Escherichia coli. *Journal of Biological Chemistry*, **1993**;268(32), 24498-24505.
20. **Chao J, Bledsoe G, Chao L.** Protective Role of Kallistatin in Vascular and Organ Injury. *Hypertension*. **2016 Sep**;68(3):533-41.

21. **Chao J, Yin H, Yao YY, Shen B, Smith Jr, RS, Chao, L.** Novel role of kallistatin in protection against myocardial ischemia–reperfusion injury by preventing apoptosis and inflammation. *Human gene therapy*, **2006**;17(12), 1201-1213.
22. **Chao J, Li P, Chao L.** Kallistatin: double-edged role in angiogenesis, apoptosis and oxidative stress. *Biol. Chem.* **2017**;398, 1309–1317.
23. **Chao J, Guo Y, Chao L.** Protective Role of Endogenous Kallistatin in Vascular Injury and Senescence by Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Med Cell Longev.* **2018**;2:4138560.
24. **Chaturvedi V, Handa R, Rao DN, Wali JP.** Estimation & significance of serum & synovial fluid malondialdehyde levels in rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res.* **1999**/05//;109:170-4.
25. **Chen N, Chen S, Zhang Z, Cui X, Wu L, Guo K, Shao H, Ma JX, Zhang X.** Overexpressing Kallistatin Aggravates Experimental Autoimmune Uveitis Through Promoting Th17 Differentiation. *Front Immunol.* **2021** Oct 18;12:756423. doi: 10.3389/fimmu.2021.756423. PMID: 34733288; PMCID: PMC8558411.
26. **Choi ST, Kim JH, Seok JY, Park YB, Lee SK.** Therapeutic effect of anti-vascular endothelial growth factor receptor I antibody in the established collagen-induced arthritis mouse model. *Clinical rheumatology*, **2009**;28, 333-337.
27. **Cylwik, L Chrostek, E Gindzienska-Sieskiewicz, S Sierakowski, M Szmikowski,** Relationship between serum acute-phase proteins and high disease activity in patients with rheumatoid arthritis, *Advances in Medical Sciences*, **2010**; 55,1,2010,80-85, 1896-1126,
28. **Çefle A, Keser G, Terzioğlu E, Ertenli İ, İnanç N, Coşan F, et al.** Türkiye Romatoloji Derneği romatoid artrit ulusal tedavi önerileri. *Journal of Turkish Society for Rheumatology*, **2018**;10(2), 81–84.
29. **Da Fonseca LJ, Nunes-Souza V, Goulart MO, Rabelo LA.** Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis: What the Future Might Hold regarding Novel Biomarkers and Add-On Therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**.
30. **De Brito Rocha S, Baldo DC, Andrade LEC.** Clinical and pathophysiologic relevance of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Adv Rheumatol.* **2019**;59(1):1-13.
31. **Deane, K. D.** Preclinical rheumatoid arthritis and rheumatoid arthritis prevention. *Current rheumatology reports*, **2018**; 20, 1-7.
32. **Demirel A, Kırnap M.** Romatoid Artrit Tedavisinde Geleneksel Ve Güncel Yaklaşımlar. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2010**;19(1), 74-84.
33. **Deniz G, Kavakli A, Sikoglu OK, Perilioglu AZ, Ece Y, Ogeturk M, Bilek F.** In Patients with Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis, Effects of Hand Physical Features on Hand Function. *Kafkas Journal of Medical Sciences, Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, **2021**;11(1).
34. **Durmaz N, Ağardan, NBM.** Romatoid Artrit Tedavisinde Hedeflendirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlere Genel Bakış. *Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University*, **2024**;48(1), 259-273.
35. **Dwivedi, A., Jha, A. K., & Gupta, V.** Impact of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms on MTX drug toxicity and efficacy profile of RA patients in North India. *Meta Gene*, **2020**; 24, 100705.
36. **Elkan, AC., Engvall, IL., Cederholm, T. et al.** Rheumatoid cachexia, central obesity and malnutrition in patients with low-active rheumatoid arthritis: feasibility of anthropometry, Mini Nutritional Assessment and body composition techniques. *Eur J Nutr* **2009**; 48, 315–322. <https://doi.org/10.1007/s00394-009-0017-y>
37. **England, B. R., Tjong, B. K., Bergman, M. J., Curtis, J. R., Kazi, S., Mikuls, T. R., ... & Michaud, K.** 2019 update of the American College of Rheumatology recommended rheumatoid arthritis disease activity measures. *Arthritis care & research*, **2019**; 71(12), 1540-1555.
38. **Engvall, I., Elkan, A., Tengstrand, B., Cederholm, T., Brismar, K., & Hafström, I.** Cachexia in rheumatoid arthritis is associated with inflammatory activity, physical disability, and low bioavailable insulin-like growth factor. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, **2008**;37(5),321–328.
39. **Entezami P, Fox DA, Clapham PJ, Chung KC.** Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis. *Hand clinics*, **2011**;27(1), 1-10.
40. **Esen, C., Alkan, B. A., Kırnap, M., Akgül, O., Işıkoğlu, S., & Erel, O.** The effects of chronic periodontitis and rheumatoid arthritis on serum and gingival crevicular fluid total antioxidant/oxidant status and oxidative stress index. *Journal of periodontology*, **2012**; 83(6), 773–779. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110420>

41. **Ercan Z, Deniz G, Yentur SB, Arikan FB, Karatas A, Alkan G, et al.** Effects of acute aerobic exercise on cytokines, klotho, irisin, and vascular endothelial growth factor responses in rheumatoid arthritis patients. *Irish Journal of Medical Science* **2023**;(1971-), 192(1), 491-497.
42. **Ertenli İ.** Romatoid artrit'te yeni tedaviler. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.* **2006**; 2(25):6064.
43. **Fassmer AM, Garbe E, Schmedt N.** Frequency and trends of disease-modifying antirheumatic drug (DMARD) use in Germany. *Pharmacology research & perspectives*, **2016**;4(5), e00254.
44. **Figus FA, Piga M, Azzolin I, McConnell R, Iagnocco A.** Rheumatoid arthritis: extra-articular manifestations and comorbidities. *Autoimmunity reviews*, **2021**;20(4), 102776.
45. **Firestein GS, McInnes IB.** Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*. **2017**;46(2): 183-196.
46. **Firestein GS.** Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*, **2003**;423, 356-361
47. **Furst DE, Emery P.** Rheumatoid arthritis pathophysiology: update on emerging cytokine and cytokine-associated cell targets. *Rheumatology (Oxford)* **2014**;53:1560–9
48. **Gao L, Yin H, Smith R, Chao L, Chao J.** Role of kallistatin in prevention of cardiac remodeling after chronic myocardial infarction. *Laboratory Investigation*, **2008**;88(11), 1157-1166.
49. **Gao, Y., Zhang, Y., & Liu, X.** Rheumatoid arthritis: pathogenesis and therapeutic advances. *MedComm*, **2024**; 5(3), e509.
50. **Gibofsky, A.** Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *The American journal of managed care*, **2012**; 18(13 Suppl), S295-302.
51. **Gómez EF, Kaufer-Horwitz M, Mancera-Chávez GE.** Medical Nutrition Therapy for Rheumatic Disease. In: Mahan KL, Raymond JL, editors. *Krause's Food & The Nutrition Care Process-E Book*. 14th ed. Kanada: Elsevier Health Sciences; **2017**.p. [790-805].
52. **Gök Metin, Z., & Özdemir, L..** Using aromatherapy and reflexology for pain and fatigue management in rheumatoid arthritis. *JOURNAL OF EDUCATION AND RESEARCH IN NURSING*, **2016**;13(1), 44-49.
53. **Grazziotin LR, Currie G, Twilt M, Ijzerman MJ, Kip MM, Koffijberg H, Marshall DA.** Real-world data reveals the complexity of disease modifying anti-rheumatic drug treatment patterns in juvenile idiopathic arthritis: an observational study. *Pediatric Rheumatology*, **2022**;20(1), 25.
54. **Griendling, K. K., Camargo, L. L., Rios, F. J., Alves-Lopes, R., Montezano, A. C., & Touyz, R. M.** Oxidative stress and hypertension. *Circulation research*, **2021**; 128(7), 993-1020.
55. **Günendi, Z., & Can, A. G.).** Romatoid Artrit'te Ölüm Nedenleri. *Romatizma/Rheumatism*, **2008**; 23(3).
56. **Hamamichi Y, Ichida F, Yu X, Hirono KI, Uese KI, Hashimoto I, Miyawaki T.** Neutrophils and mononuclear cells express vascular endothelial growth factor in acute Kawasaki disease: its possible role in progression of coronary artery lesions. *Pediatric research*, 2001; 49(1), 74-80.
57. **Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD.** Oxidative stress in cancer. *Cancer cell*, **2020**; 38(2), 167-197.
58. **Hennessey, A., Lukawska, J., Cambridge, G., Isenberg, D., & Leandro, M.** Adverse infusion reactions to rituximab in systemic lupus erythematosus: a retrospective analysis. *BMC rheumatology*, **2019**; 3, 1-7.
59. **Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, et al.** Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *European journal of immunology*, **1988**; 18(11), 1797–1801.
60. **Hirayama T, Danks L, Sabokbar A, Athanasou NA.** Osteoclast formation and activity in the pathogenesis of osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, **2002**;41(11), 1232-1239.
61. **Huang KF, Yang HY, Xing YM, Lin JS, Diao Y.** Recombinant human kallistatin inhibits angiogenesis by blocking VEGF signaling pathway. *J. Cell. Biochem.* **2014**;115, 575–584.
62. **Huang S, Chen M, Yu H, Lin K, Guo Y, Zhu P.** Co-expression of tissue kallikrein 1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 improves myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting angiogenesis and inhibiting oxidative stress. *Mol. Med. Rep.* **2021**;23, 166.
63. **Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F.** Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vasc. Pharmacol.* **2018**;100, 1–19.
64. **Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Yang SH.** The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, **2021**;22(5), 2719.

65. **Jang S, Kwon E-J, Lee JJ.** Rheumatoid Arthritis: Pathogenic Roles of Diverse Immune Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**; 23(2):905.
66. **Jiang X, Zeng J, Chen F, Li J.** Systematic review and meta-analysis on the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Annals Of Palliative Medicine*, **2021**;10(10), 10652-10660.
67. **Jung YK, Kang YM, Han S.** Osteoclasts in the inflammatory arthritis: implications for pathologic osteolysis. *Immune Netw*. **2019**;19(1).
68. **Kaner G, Çalık G, Eren E, Gerdan V.** Romatoid Artritte Tıbbi Beslenme Tedavisine Yönelik Yaklaşımlar. *Bes Diy Derg* [Internet]. [a.yer 28 Mayıs 2024] **2021**;49(1):75-81.
69. **Karadağ O, Kiraz S.** Romatoid artrite tedavisi: kısa etkili ilaçlar (nonsteroidal antiinflatuar ilaçlar ve steroidler). *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* **2006**; 2(25):46-51.
70. **Kean WF, Buchanan WW.** The use of NSAIDs in rheumatic disorders 2005: a global perspective. *Inflammopharmacology*. **2005**; 13 (4): 343-370
71. **Kim HR, Kim KW, Kim BM, Cho ML, Lee SH.** The effect of vascular endothelial growth factor on osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *PloS one*, **2015**;10(4), e0124909.
72. **Kim JW, Kong JS, Lee S, Yoo SA, Koh JH, Jin J, Kim WU.** Angiogenic cytokines can reflect the synovitis severity and treatment response to biologics in rheumatoid arthritis. *Experimental & molecular medicine*, **2020**;52(5), 843-853.
73. **Klareskog L, Catrina AI.** Autoimmunity: Lungs and citrullination. *Nat Rev Rheumatol*. **2015**;11(5):261-2.
74. **Kowanetz M, Ferrara N.** Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective. *Clinical Cancer Research*, **2006**;12(17), 5018-5022.
75. **Lama M, Sarkar R, Ghosh B.** Serum cytokine profiles in patients with rheumatoid arthritis before and after treatment with methotrexate. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **2023**;43(8), 344-350.
76. **López-Armkaurada MJ, Fernández-Rodríguez JA, Blanco FJ.** Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *Antioxidants*. **2022**; 11(6):1151.
77. **Maeda, K., Yoshida, K., Nishizawa, T., Otani, K., Yamashita, Y., Okabe, H., ... & Saito, M.** Inflammation and bone metabolism in rheumatoid arthritis: molecular mechanisms of joint destruction and pharmacological treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, **2022** 23(5), 2871.
78. **Maeno N, Takei S, Imanaka H, Yamamoto K, Kuriwaki K, Kawano Y.** Increased interleukin-18 expression in bone marrow of a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis and unrecognized macrophage-activation syndrome. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, **2004**;50(6), 1935-1938.
79. **Majithia, V., & Geraci, S. A.** Rheumatoid arthritis: diagnosis and management. *The American journal of medicine*, 2007;120(11), 936-939.
80. **McInnes IB, Schett G.** Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Immunology*, **2007**;7(6), 429-442.
81. **McInnes IB, Schett G.** The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. **2011**;365(23):2205-2219.
82. **Merino de Paz N, Quevedo-Abeledo JC, Gómez-Bernal F, de Vera-González A, Abreu-González P,**
83. **Miao RQ, Agata J, Chao L, Chao J.** Kallistatin is a new inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Blood* **2002**;100,3245-3252.
84. **Miossec P.** An update on the cytokine network in rheumatoid arthritis. *Current opinion in rheumatology*, **2004**;16(3), 218-222.
85. **Missiroli S, Genovese I, Perrone M, Vezzani B, Vitto VAM, Giorgi C.** The Role of Mitochondria in Inflammation: From Cancer to Neurodegenerative Disorders. *J. Clin. Med*. **2020**;9,740.
86. **Mititelu RR, Pădureanu R, Băcănoiu M, Pădureanu V, Docea AO, Calina D, Barbulescu AL et al.** İnflatuar ve Oksidatif Stres Belirteçleri - Romatoid Artritte Ayna Araçları. Biyotiplar . **2020**; 8(5):125.
87. **Mohammed, R. H., & Bhutta, B. S. (2020).** Hand and wrist rheumatoid arthritis.
88. **Muhammad F, Avalos PN, Mursalin MH, Ma JX, Callegan MC, Lee DJ.** Kallistatin Attenuates Experimental Autoimmune Uveitis by Inhibiting Activation of T Cells. *Front Immunol*. **2020** May 21;11:975. doi: 10.3389/fimmu.2020.00975. PMID: 32508841; PMCID: PMC7253575

89. **Nam EJ, Han SW, Kim SU, Cho JH, Sa KH, Lee WK, et al.** Association of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms with Behcet disease in a Korean population. *Human immunology*, **2005**;66(10), 1068-1073.
90. **Neurath MF, Finotto S.** IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine & growth factor reviews*, **2011**;22(2), 83-89.
91. **O'Brien W, Fissel BM, Maeda Y, Yan J, Ge X, Gravallese EM.** RANK-independent osteoclast formation and bone erosion in inflammatory arthritis. *Arthritis & rheumatology*, **2016**;68(12), 2889-2900.
92. **Oğur H, Günaydın R, Rakıcioğlu N.** Romatoid artritli kadın hastalarda beslenme durumunun değerlendirilmesi. *Bes Diy Derg.* **2020**;48(1):63-72.
93. **Onat, A.** Romatoid artrit tedavisinin genel prensipleri. *Türkiye Klinikleri Rheumatology-Special Topics*, **2012**; 5.2: 73-78.
94. **Orr, C. K., Najm, A., Young, F., McGarry, T., Biniecka, M., Fearon, U., & Veale, D. J.** The Utility and Limitations of CRP, ESR and DAS28-CRP in Appraising Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in medicine*, **2018**; 5, 185.
95. **Ozgocmen S, Sogut S, Ardicoglu O, Fadillioglu E, Pekkutucu I, Akyol O.** Serum nitric oxide, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde status in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* **2004**;24:80-3.
96. **Ozgonenel L, Cetin E, Tutun S, Tonbaklar P, Aral H, Guvenen G.** The relation of serum vascular endothelial growth factor level with disease duration and activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical rheumatology*, **2010**;29, 473-477.
97. **Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z.** Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **2015**;6(3), 331-336.
98. **Paglia MDG, Silva MT, Lopes LC, Barberato-Filho S, Mazzei LG, Abe FC.** Use of corticoids and non-steroidal anti-inflammatories in the treatment of rheumatoid arthritis: Systematic review and network meta-analysis. *PLoS One*, **2021**;16(4), e0248866.
99. **Papadogianni P, Lambrou GI.** Rheumatoid Arthritis and Pannus. *Journal of Research & Practice on the Musculoskeletal System (JRPMS)*, **2023**;7(2).
100. **Petrelli, F., Mariani, F. M., Alunno, A., & Puxeddu, I.** Pathogenesis of rheumatoid arthritis: one year in review 2022. *Clin Exp Rheumatol*, **2022** 40(3), 475-82.
101. **Plasqui G.** The role of physical activity in rheumatoid arthritis. *Physiol Behav.* **2008**;94(2):270-5.
102. **Rabab M.Bakry, Samia M.Hassan, Rabab A.Mohammed, Enas A. Ablelaleem,** Significance of vascular endothelial growth factor (VEGFA)-1154 G/A gene polymorphism (rs1570360) in rheumatoid arthritis patients, *The Egyptian Rheumatologist*, **2022**;44,3,197-2011, 1110-1164
103. **Raimund WK, Rolf B, Bruno S, Palombo-Kinne E, Burmester, G.** Macrophages in Rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* **2000**;2:189-202.
104. **Rajael, E. et al.** Evaluating the relationship between serum level of interleukin-6 and rheumatoid arthritis severity and disease activity. *Current rheumatology reviews*, **2020**, 16.3: 249-255.
105. **Robinson E, Keystone EC, Schall TJ, Gillett J N, Fish EN.** Chemokine expression in rheumatoid arthritis (RA): evidence of RANTES and macrophage inflammatory protein (MIP)-1/3 production by synovial T cells. *Clinical& Experimental Immunology*, **1995**;101, 398-407.
106. **Rose-John S, Jenkins BJ, Garbers C, Moll JM, Scheller J.** Targeting IL-6 trans-signalling: past, present and future prospects. *Nature Reviews Immunology*, **2023**;23(10), 666-681.
107. **Roubille C, Richer V, Starnino T, McCourt C, McFarlane A, Fleming P, et al.** The effects of tumour necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Annals of the rheumatic diseases*, **2015**;74(3), 480-489.
108. **Roussy, J. P., Bessette, L., Bernatsky, S., Rahme, E., & Lachaine, J.** Biologic disease-modifying anti-rheumatic drugs and the risk of non-vertebral osteoporotic fractures in patients with rheumatoid arthritis aged 50 years and over. *Osteoporosis International*, **2013**; 24, 2483-2492.
109. **Sahiloğulları, Ö.** Sistemik Lupus Eritematozus Hastalarında Kallistatin, Tnf- α , Vegf, Il-6, MDA, Katalaz ve SOD İlişkisinin İncelenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi.* **2024**.
110. **Scherer HU, Häupl T, Burmester GR.** The etiology of rheumatoid arthritis. *Journal of autoimmunity*, **2020**;110, 102400.
111. **Shen B, Gao L, Hsu YT, Bledsoe G, Hagiwara M, Chao L, Chao J.** Kallistatin attenuates endothelial apoptosis through inhibition of oxidative stress and activation of Akt-eNOS signaling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2010**;299, H1419-H1427.

112. **Shen B, Hagiwara M, Yao YY, Chao L, Chao J.** Salutary effect of kallistatin in salt-induced renal injury, inflammation, and fibrosis via antioxidative stress. *Hypertension*. **2008**;51, 1358–1365.
113. **Shrivastava AK, Pandey A.** Inflammation and rheumatoid arthritis. *Journal of physiology and biochemistry*, **2013**; 69, 335-347.
114. **Shrivastava, A. K., Singh, H. V., Raizada, A., Singh, S. K., Pandey, A., Singh, N., ... & Sharma, H.** Inflammatory markers in patients with rheumatoid arthritis. *Allergologia et immunopathologia*, **2015**; 43(1), 81-87.
115. **Singh, J. A., Saag, K. G., Bridges Jr, S. L., Akl, E. A., Bannuru, R. R., Sullivan, M. C., ... & McAlindon, T.** 2015 American College of Rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis & rheumatology*, **2016**; 68(1), 1-26.
116. **Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M.** EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Annals of the rheumatic diseases*, **2017**;76(6), 960–977.
117. **Srirangan S, Choy EH.** The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. **2010**;Oct;2(5):247-56. doi: 10.1177/1759720X10378372. PMID: 22870451; PMCID: PMC3383508.
118. **Stavropoulos-Kalinoglou, A., Metsios, G. S., Koutedakis, Y., & Kitas, G. D.** Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, **2011**; 50(3), 450-462.
119. **Steinman LA.** Brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nature medicine*, **2007**;13(2), 139–145.
120. **Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T.** Interleukin (IL-6) immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **2018**; 10(8), a028456.
121. **Taylor PC.** Clinical efficacy of launched JAK inhibitors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, **2019**;58(1):17-26.
122. **Tekeoğlu İ., Baykul M.** Romatoid Artrit Beslenme, *J Biotechnol and Strategic Health Res*. **2020**;4(1):1-12
123. **Terzioğlu E.** Romatoid artrit etyopatogenezi. *Ulusal Romatoloji Dergisi*, 1(Special Issue), **2009**;4.
124. **van den Hoven, J. M., Van Tomme, S. R., Metselaar, J. M., Nuijen, B., Beijnen, J. H., & Storm, G.** Liposomal drug formulations in the treatment of rheumatoid arthritis. *Molecular pharmaceutics*, **2011**, 8(4), 1002–1015.
125. **Venables P, Maini RN.** Clinical manifestations of rheumatoid arthritis. *Obtenido el*, **2016**;26.
126. **Wang CR, Chen SY, Shiao AL, Wu CL, Jou IM, Chao L, et al.** Upregulation of kallistatin expression in rheumatoid joints. *The Journal of rheumatology*, **2007**;34(11), 2171-2176
127. **Wang G, Zou J, Yu X, Yin S, Tang C.** The antiatherogenic function of kallistatin and its potential mechanism. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, **2020**;52(6), 583-589.
128. **Wang Y, Wu H, Deng R.** Angiogenesis as a potential treatment strategy for rheumatoid arthritis. *European Journal of Pharmacology*, **2011**;910, 174500.
129. **Wang YH, Zhou ZB, Guo CA, Zhai J, Qi FM, Li HL.** Role of mimic of manganese superoxide dismutase in proliferation and apoptosis of gastric carcinoma BGC-823 cells in vitro and in vivo. *International Immunopharmacology*, **2015**;26(2), 277-285.
130. **Wang, C.R., Chen, S.Y., Wu, C.L., Liu, M.F., Jin, Y.T., Chao, L, et al.** Prophylactic adenovirus-mediated human kallistatin gene therapy suppresses rat arthritis by inhibiting angiogenesis and inflammation. *Arthritis Rheum*. **2005**;52, 1319–1324.
131. **Wang, X., Huang, X., Gao, P., Ren, Y., Li, X., & Diao, Y.** Kallistatin attenuates inflammatory response in rheumatoid arthritis via the NF-κB signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, **2023**;943, 175530.
132. **Wells, P. M., Adebayo, A. S., Bowyer, R. C., Freidin, M. B., Finckh, A., Strowig, T., ... & Williams, F. M.** Associations between gut microbiota and genetic risk for rheumatoid arthritis in the absence of disease: a cross-sectional study. *The Lancet Rheumatology*, **2020**; 2(7), e418-e427.
133. **Wilson, A., Yu, H. T., Goodnough, L. T., & Nissensohn, A. R.** Prevalence and outcomes of anemia in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. *The American journal of medicine*, **2004**;116(7), 50-57.
134. **Wu D, Luo Y, Li T, Zhao X, Lv T, Fang G, Pang, Y.** Systemic complications of rheumatoid arthritis: Focus on pathogenesis and treatment. *Frontiers in Immunology*, **2022**;13, 1051082.

135. **Yin H, Gao L, Shen B, Chao L, Chao J**, Kallistatin inhibits vascular inflammation by antagonizing tumor necrosis factor- α -induced nuclear factor κ B activation. *Hypertension*. **2010**;56,260–267.
136. **Yoo SA, Kwok, SK, Kim WU**. Proinflammatory role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: prospects for therapeutic intervention. *Mediators of inflammation*, **2008**.
137. **Yu Z, Wang Y, Li Y, Liao C, Dai J, Luo Y, Wu P**. Effect of Moxibustion on the Serum Levels of MMP-1, MMP-3, and VEGF in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2020**;(1), 7150605.
138. **Yue C, You X, Zhao L, Wang H, Tang F, Zhang F, et al**. The effects of adalimumab and methotrexate treatment on peripheral Th17 cells and IL-17/IL-6 secretion in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int* **2010**;30(12):1553–7.
139. **Zamudio-Cuevas Y, Martínez-Flores K, Martínez-Nava GA, Clavijo-Cornejo D, Fernández-Torres J, Sánchez-Sánchez R**. Rheumatoid Arthritis and Oxidative Stress: Rheumatoid arthritis and OA. *Cellular and Molecular Biology*, **2022**;68(6), 174–184.
140. **Zhang N, Zheng N, Luo D, Lin J, Lin D, Lu YA. et al**. Novel single domain bispecific antibody targeting VEGF and TNF- α ameliorates rheumatoid arthritis. *International Immunopharmacology*, **2024**;126, 111240.
141. **Zhou L, Feng JT, Zhang L, Kuang Y**. Clinical significance of serum total oxidant/antioxidant status for the disease activity in active rheumatoid arthritis. *Int J Clin Exp Pathol*. **2017**; 1;10(8):8895-8900. PMID: 31966757; PMCID: PMC6965396.

EKLER

EK 1

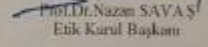
 T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

BÜRO : Etik Kurul Sekreterliği
SAYI : 4298783/ 05004
KONU : Etik Kurul Kararları 11/01/2023

Sayın
Dr.Öğr.Üyesi Serdar DOĞAN
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Kurulumuzun, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Dr.Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN'ın "Romatoid artrit hastalarında VEGF, IL-6, TNF-Alpha, Kallistatin ve oksidatif stres parametreleri düzeylerinin incelenmesi" isimli çalışması ile ilgili alması olduğu 09/01/2023 ve 02 nolu etik onay kararı aşağıya çıkartılmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.


Prof.Dr.Nazan SAVAŞ
Etik Kurul Başkanı

KARAR 02- Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Dr.Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN'ın "Romatoid artrit hastalarında VEGF, IL-6, TNF-Alpha, Kallistatin ve oksidatif stres parametreleri düzeylerinin incelenmesi" isimli çalışması görüldüğü olup; çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve etik kurallara uygun bulunmuş olup; çalışmanın finans kaynağı olarak gösterilen, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden (BAP) araştırmaya maddi anlamda destek verildiğine dair gerekli belgeler Kurulumuza ulaştıktan sonra çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğretim ve ortaöğretim öğrenimini Hatay ilinde tamamladı. Lisans eğitimini 2016-2020 yılları arasında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölümünde tamamladı. Yüksek lisans öğrenimine 2022 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Biyokimya Anabilimdalı'nda başladı.

