



T.C

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA OMENTİN  
SEVİYESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

EMİNE YAYKAŞLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. KÜRŞAT OĞUZ YAYKAŞLI

DÜZCE 2014



T.C

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA OMENTİN  
SEVİYESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

EMİNE YAYKAŞLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. KÜRŞAT OĞUZ YAYKAŞLI

DÜZCE 2014

## KABUL VE ONAY

Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan  
“Romatoid Artritli Hastalarda Omentin Seviyesinin Değerlendirilmesi”  
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tarihi:** 07/02/2014

### TEZ SINAV JÜRİSİ



Doç. Dr. Hüseyin YÜCE  
Düzce Üniversitesi  
**Başkan**

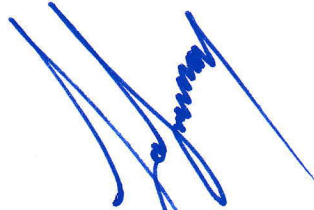


Yrd. Doç. Dr. Kürşat Oğuz YAYKAŞLI  
Düzce Üniversitesi  
**Üye**



Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KAYA  
Düzce Üniversitesi  
**Üye**

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun **18 Şubat /2014** tarih ve **2014 / 7** sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Safinaz ATAÖĞLU  
**Sağlık Bilimleri Enstitü Müdür V.**

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Tarih

(İmza)

**EMİNE YAYKAŞLI**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, çalışmalarım için gerekli olanakların sağlanmasındaki katkılarından dolayı değerli hocam tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Kürşat Oğuz YAYKAŞLI'ya, bilgi ve yardımlarını bölümümüz öğretim üyeleri Doç. Dr. Hüseyin YÜCE ve Yrd. Doç. Dr. Recep ERÖZ'e, tezim için gerekli hastaların seçiminde ve klinik değerlendirmelerindeki desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZŞAHİN ve Arş. Gör. Dr. Esra Çelebi'ye, Düzce Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ramazan Memişoğulları ve Arş. Gör. Dr. Taner Uçgun ve Muhammet Engin Özcan'a, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme tez çalışmalarım süresince yapmış oldukları destek ve yardımlardan dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca bu araştırmanın iyi bir şekilde yapılabilmesi için Düzce Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi Koordinatörlüğünce 2012.04.HD-058 nolu proje olarak desteklenmiştir. DÜBAP ile ilgili konularda gösterdikleri ilgi ve hassasiyetlerinden dolayı başta şube müdürü Mehmet Aygan ve şef Zekiye Özdaş olmak üzere Beytullah Çıtır, Abdurrahman Gümüşer, Hatice Aygan ve Saadet Andıç'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI

BEYAN

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

SİMGE VE KISALTMALAR

TABLolar LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

ÖZET

ABSTRACT

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Romatoid Artrit

2.1.1. Tarihçe

2.1.2. Tanım

2.1.3. Epidemiyoloji

2.1.4. Etyolojisi

2.1.4.1. Genetik Yatkınlık

2.1.4.2. Çevresel Faktörler

2.1.4.3. Enfeksiyöz ajanlar

2.1.5. Patogenez ve patoloji

2.2. Adipoz Doku

2.2.1. Adipoz Dokunun Tanımı ve Fonksiyonları

2.2.2. Leptin

2.2.3. Adiponektin

2.2.4. Rezistin

2.2.5. Visfatin

2.3.6. Omentin

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma grubunun tanımlanması

3.2. Kullanılan kimyasallar

3.3. Kullanılan gereçler

i

ii

iii

vi

vii

viii

1

2

3

5

5

5

5

5

6

7

7

8

8

12

12

13

14

14

15

16

18

18

18

18

3.4. Agoraz jel elektroforezinde kullanılan çözeltiler	19
3.4.1. Etidyum bromür (10 mg/ml)	19
3.4.2. 1x tris-borik asit-etilendiamintetraasetat (TBE)	19
3.4.3. Yükleme Tamponu (Loading Dye)	19
3.5. Kullanılan Yöntemler	19
3.5.1. Periferik kandan DNA izolasyonu	19
3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	20
3.5.3. %2'lik agaroz jel hazırlanması	21
3.5.4. PZR ürünlerinin %2'lik jele yüklenmesi	21
3.5.4.1. PZR ürünlerinin kontrolü	22
3.5.5. Val109Asp gen polimorfizminde enzim kesimi	23
3.5.6. Val109Asp gen polimorfizminin değerlendirilmesi ve kontrolü	23
3.5.7. Val109Asp gen polimorfizminin değerlendirilmesi	23
3.6. ELISA	24
3.7. İstatistiksel analizler	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	30
6. KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	45

## SİMGE VE KISALTMALAR

SNP	: Tek nükleotidlik farklılık (Single nükleotide polimorfizm).
RFLP	: Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi )
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
TNF- $\alpha$	: Tümör Nekroz Faktörü
IL-6	: İnterlökin-6
VKI	: Vücut Kitle İndeksi
PZR (PCR)	: Polimer Zincir Reaksiyonu (PZR=PCR)
Taq polimeraz	: PZR'de Kullanılan DNA Polimeraz Enzimi
dNTP	: Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
TBE	: Tris-Borik asit EDTA
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromid
Mg Cl <sub>2</sub>	: Magnezyum Klorür
SPSS	: Statistical Packages for the Social Sciences-Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
bç	: Baz Çifti
MO	: Mikroorganizma
P.acnes	: Propionibacterium acnes
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
DM	: Diabet Mellitus



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 3.1.</b> Omentin Val109Asp polimorfizmi için PZR koşulları	21
<b>Tablo 4.1.</b> Hasta ve kontrol gruplarının demografik ve laboratuvar özellikleri	27
<b>Tablo 4.2.</b> Val109Asp polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı	28

## ŞEKİLLER ve RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Şekil 2.1.</b> Romatoid artrit basitleştirilmiş etyopatogenezi	6
<b>Şekil 2.2.</b> Romatoid artrit patogenezi	9
<b>Şekil 2.3.</b> Agrekanın ADAMTSs enzimleri tarafından yıkımı	10
<b>Şekil 2.4.</b> Metaloproteinazların romatoid artritte oluşturduğu eklem harabiyeti	11
<b>Şekil 2.5.</b> Adipokinler ve fonksiyonları	13
<b>Şekil.2.6.</b> Visseral yağ dokusu ve visfatin	16
<b>Şekil.3.1.</b> Omentin Val109Asp A/T gen polimorfizminin şematik jel görüntüsü	24
<b>Resim 4.1.</b> Val109Asp SNP'ini içeren PZR ürünlerinin AccI enzim kesimi sonrası jeldeki görüntüsü	29

## ÖZET

### ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA OMENTİN SEVİYESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Emine YAYKAŞLI

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Genetik Anabilim Dalı

Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Kürşat Oğuz YAYKAŞLI

Şubat 2014, 52 sayfa

Romatoid artrit (RA), nüfusun yaklaşık % 1 ini etkileyen inflamatuvar ve otoimmün olan bir hastalıktır. Eklem kıkırdağında geri dönüşü olmayan hasarlar ile karakterizedir. Yakın zaman önce tanımlanan omentinin çeşitli inflamatuvar hastalıklarda rol aldığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı; omentinin RA'in patogenezindeki muhtemel rolünü hem genetik hemde protein düzeyde değerlendirmektir.

Bu çalışma, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon kliniğine başvurmuş 87 hastayı içermektedir. Serum omentin seviyesi ELISA, Val109Asp genotipleri ise PZR-RFLP yöntemleriyle analiz edildi.

Serum omentin seviyesi ve Val109Asp polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Bu çalışma, omentin adipokininin RA'in pathogenezindeki muhtemel rolünü inceleyen ilk araştırmadır. RA ile omentin arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Çalışmada kullandığımız hastalarımız önceden tanısı konulmuş ve ilaç kullanan bireyler olması çalışmamızın başlıca kısıtlayıcı faktörü olarak düşünülebilir. Fakat omentinin RA'in patogenezindeki muhtemel rolünü açıklığa kavuşturmak için bu çalışma, ilaç kullanmamış hastalardan meydana gelen daha büyük popülasyonlarla tekrarlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Romatoid Artrit, Omentin, polimorfizm, ELISA

## **ABSTRACT**

### **THE EVALUATION OF OMENTIN LEVEL in RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS**

Emine YAYKAŞLI

Master Thesis, Department of Medical Biology Genetic

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kürşat Oğuz YAYKAŞLI

January 2014, 52 pages

Rheumatoid arthritis (RA) is an inflammatory and autoimmune disease, affecting approximately 1% population. It is characterized by irreversible destruction of articular cartilage. Omentin has been recently identified as involved in several inflammatory diseases. The aim of this study is to evaluate the potential role of omentin in pathogenesis of RA both genetic and protein levels.

87 patients who applied to Düzce University School of Medicine, Physical Medicine and Rehabilitation Clinic were included in this study. Serum omentin level and Val109Asp genotypes were determined by ELISA and PCR-RFLP methods respectively.

There was no significant difference between patient and control groups in terms of serum omentin level and Val109Asp polymorphism.

This study is unique cause is the first study to investigate the possible role of omentin adipokine in the pathogenesis of RA in Turkish population. There was no significant relationship between omentin and RA disease. Our patients had been diagnosed previously and they started to use medicine. This can be considered to be a major limitation of our study. However, to elucidate the putative role of the omentin in the pathogenesis of RA, this study should be conducted on a larger population with more appropriate subjects.

**Key words:** Rheumatoid arthritis, Omentin, Polymorphism, ELISA

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan organizmasının önemli bir bileşeni olan kıkırdak dokusu, az sayıda kondrosit hücresi ve bu hücreler tarafından sentezlenen proteoglikan ve kollojenler gibi ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinden oluşmaktadır. Kıkırdak dokusunun en belirgin özeliği bünyesinde var olan yüksek negatif (-) yüklü makromoleküllerdir. Negatif yüklü bu makromoleküller pozitif (+) yüklü su katyonlarıyla kompleks oluşturmak suretiyle şişkinlik meydana getiririr. Bu kompleks, insan hareketlerinden dolayı meydana gelen mekanik yüklemelerde basıncı absorbe ederek fiziksel hareketlerin devamı sağlar. Romatoid artrit (RA) gibi bazı patolojik durumlarda, inflamasyon bazı kıkırdak moleküllerini hedef alarak onları aşırı katabolize olmalarını sağlar. Bu durum, hareket kabiliyetimizi kısıtlamasının yanısıra yaşam standartlarını da düşürmektedir.

İnflamatuvar ve otoimmün bir rahatsızlık olan RA eklem kıkırdağındaki tersinmez (geri dönüşümsüz) yıkımı olarak tanımlanmaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkileyen RA, en fazla 45 ilâ 54 yaş grupları arasında görülmekle birlikte kadınlarda erkeklere nazaran 2-3 kat daha fazla yaygındır.

RA sadece eklem değil aynı zamanda deri ve kalp gibi iç organların etkilenmeleri sebebiyle sistemik bir hastalıktır. Hastalığın etyolojisi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmasına rağmen otoimmün, çevresel ve genetiksel faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir. Literatürde bazı gen polimorfizmleri ile RA arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, RA patogenezinde potansiyel genetik etki gizemini hala sürdürmektedir. Bu yüzden daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Adipokinler (adipositokinler), endokrin, parakrin ve otokrin etkilere sahip adiposit hücrelerinden sentezlenmektedir. İlk tanımlanan adipokin olan leptinin 1994 yılında keşfedilmesinden bu yana günümüze kadar birçok adipokin (visfatin, rezistin, adiponektin ve omentin) tanımlanmıştır. Yapılan araştırmalar sonucu adipoz dokunun adipokin ve kemokin gibi fonksiyonel faktörleri sentezlediği anlaşıldığından, adipoz dokunun bir endokrin organ gibi çalıştığı düşünülmektedir. Ayrıca bu adipokinlerin sentezindeki düzensizliklerin romatoid artrit gibi hastalıkların ilerlemesinde ve gelişmesinde rol aldığı bilinmektedir. En son bulunan adipokinlerden biri olan omentin geni, 1. kromozomda yer alır ve 7 intron ile 8 ekzondan meydana gelmiştir. Yapılan araştırmalarda omentinin koroner arter ve son safha böbrek rahatsızlıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi gösterilmiştir. Diğer adipokinler gibi omentinin de RA patogenezinde

rol alma ihtimali günümüze kadar yeterli araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı omentinin RA pathogenezindeki potansiyel rolünün hem genetik hemde protein seviyesinde araştırılmasıdır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Romatoid Artrit**

#### **2.1.1. Tarihçe**

İlk bilinen romatoid artrit (RA) vakası milattan önce 4500'lü yıllarda yaşamış ve bugün ABD'nin Tennessee eyaletinde bulunan yerli iskeletinde saptanmıştır. Hastalığın bugünkü ismi ise 1859 yılında Sir Archibal Garrod tarafından konmuştur. 1907 yılında Sir Archibal Garrod oğlu Archibald Garrod, osteoartrit ve RA arasındaki modern ayrımı yapmıştır. Hastalığın prognostik faktörü olarak kullanılan romatoid faktör (RF) ise 1940 yılında Waaler ve 1948 yılında Rose ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (1, 2).

#### **2.1.2. Tanımı**

Başlıca artritik hastalıklardan biri olan ve inflamatuvar artritler arasında en fazla görülen RA kronik seyirli, inflamatuvar bir otoimmün sinovyal hastalıktır. Hastalık sıklıkla kalp, akciğer ve kas gibi eklem dışı doku sorunlarıyla birlikte seyrettiğinden sistematik bir hastalıktır. Hatta kardiyovasküler gibi başka hastalıklarla birlikte seyrettiğinde ölümcül olabilmektedir. Hastalık eklem sinovyasında yangıyla başlayarak zamanla kıkırdak, kemik ve diğer komşu dokularda yıkıma neden olan eklem deformasyonuna yol açar. Zamanla eklem hareket kabiliyeti kısıtlanır ve nihayetinde yaşam kalitesini düşürür. RA, inflamatuvar etki gösteren sitokinlerce ortaya çıkan otoimmün bir hastalık olduğu bilinmesine rağmen hastalıkların oluş mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (3 - 6).

#### **2.1.3. Epidemiyoloji**

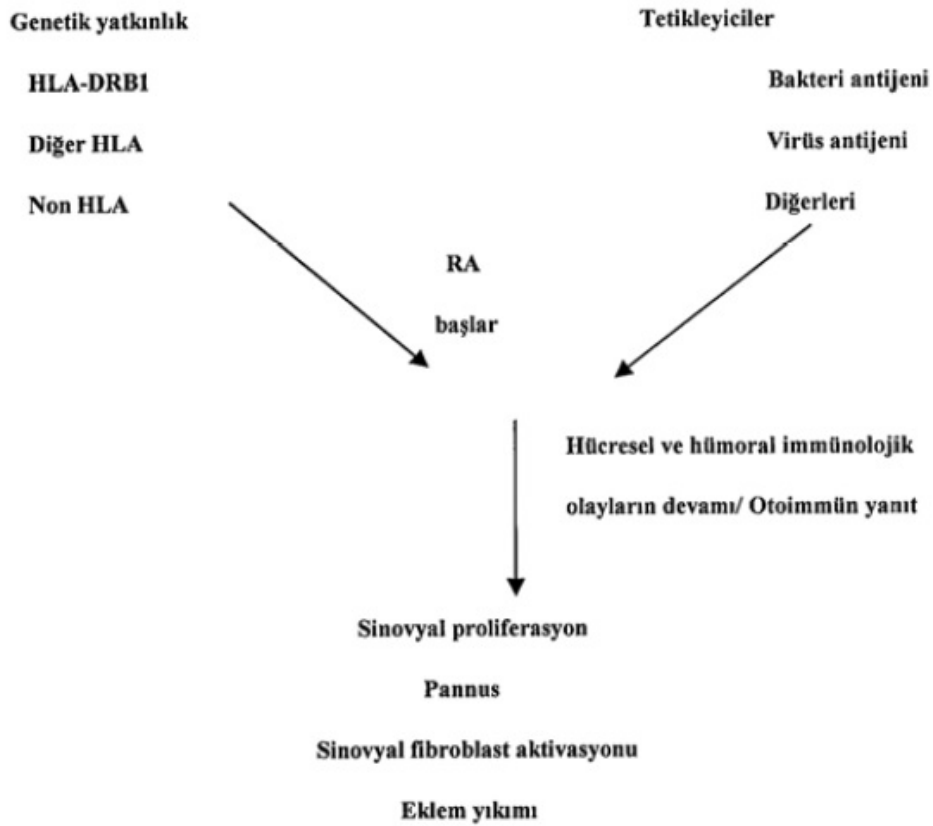
Dünyanın her yerinde ve her toplumda görülen RA' in prevalansı genel olarak yaklaşık % 1 olmakla birlikte toplumlar arasında farklılık göstermektedir. Prevalansının en düşük olduğu yer Afrika kırsalları olup gelişmekte olan ülkelerde % 0,5-1 arasındadır. Amerikan yerli gruplarında % 5-6' ile yüksek prevalansa sahipken, Karayip

bölgesinde yaşayan siyahi kişilerde daha düşük prevalansa sahiptir. Bayanlarda erkeklere göre yaklaşık 2-3 kat daha fazla görülmesine karşın, yaş ilerledikçe cinsiyetlerin hastalığa yakalanma insidansı farkı azalır. Her yaşta görülebilmesine karşın hastaların % 80'i 30 ilâ 50 yaş grubu arasındadır (7 - 9).

Türkiye popülasyonunda RA insidansı hakkındaki veriler oldukça kısıtlıdır. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından gerçekleştirilen küçük çaplı bir araştırma sonucunda 20 yaş üzeri nüfusta RA insidansı % 0,5 olarak bulunmuştur. Bu oran genel nüfusa oranlandığından % 0,36'lık bir insidans vermektedir (10).

#### 2.1.4. Etyolojisi

RA'in inflamasyonla birlikte seyreden bir hastalık olduğu bilinmesine rağmen inflamasyona sebep olan etkenler tam olarak bilinmemektedir. Fakat etyolojisinde genetik, çevresel, enfeksiyöz ajanlar ve immün sistem bozukluğu gibi çok çeşitli faktörler olduğu düşünülmektedir (11, 12).



Şekil 2.1- Romatoid artritnin basitleştirilmiş etyopatogenezi (11)



#### 2.1.4.1. Genetik Yatkınlık

Günümüzde RA ile genetik arasındaki yatkınlığı inceleyen birçok araştırma yapılmıştır ve bu çalışmalar da genetik yatkınlığın hastalığa yakalanmanın yanı sıra hastalık şiddetiyle de yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Hastalık aile içi birçok bireyde görülmektedir. Hastalığın görülme sıklığı tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine göre 4 kat daha fazladır ve tek yumurta ikizlerinde hastalığın birlikte görülme sıklığı % 15 ilâ 20 arasındadır (13, 14). Bugüne kadar RA ile ilişkilendirilmiş en önemli gen majör histokompatibilite kompleksi (MHC) gen ailesidir. Bu genler bütün omurgalılarda bulunur ve hücre yüzey molekülünü kodlar. MHC molekülleri, lökositler veya vücut hücreleri arasında etkileşimlere arabuluculuk ederler. MHC molekülleri kişinin otoimmün hastalıklara duyarlılığının yanı sıra organ naklinde donörlerin uyumluluğunun belirlenmesinde önemli rol oynarlar. MHC molekülleri ilk kez lökositlerde keşfedildiği için insan lökosit antijeni (HLA) olarak adlandırılmaktadır. MHC genleri, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgede yaklaşık 3600 kilobaz uzunluğundadır. Bu bölge üzerinde yapılmış çok sayıda araştırma olup, günümüzde tamamen dizi analizi çıkarılmıştır. HLA moleküllerinin temel görevleri peptid bağlanması ve bunların T-lenfositlere sunulması ve hücre yüzey reseptörleriyle etkileşime girerek sinyal iletiminde rol oynamasıdır (15-17). RA ile en fazla ilişkilendirilmiş HLA tipleri HLA-DR<sub>4</sub> ve DR<sub>1</sub>'dir. RA sahibi hastaların %90'ında HLA-DR<sub>4</sub>/DR<sub>1</sub> grubu olarak bilinen marker grubu bulunurken, bu grup RA sahibi olmayan kontrollerin sadece %40'ında bulunur (5). Ayrıca HLA-DR<sub>2</sub>, -DR<sub>3</sub> ve -DR<sub>7</sub>'nin hastalık riskini azalttığı rapor edilmiştir (13). Ancak HLA bölgesindeki genler RA'ın genetik riskinin sadece 1/3'ünü açıklayabildiğinden, HLA dışındaki bazı genlerin RA için yatkınlık oluşturduğu belirtilmektedir. Bu genlere örnek olarak tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin (IL)-10 genlerindeki polimorfizmler ve kromozom 3 (3q13)'deki bir bölge örnek olarak verilebilir (18 - 20).

#### 2.1.4.2. Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler arasında RA gelişiminde en fazla suçlanan risk faktörü sigaradır. Sigara RA gelişimine yatkınlık oluşturmasının yanı sıra prognozu da kötüleştirdiği rapor edilmiştir. Uygulanan diyet rejiminin de RA'ı iyi yada kötü yönde

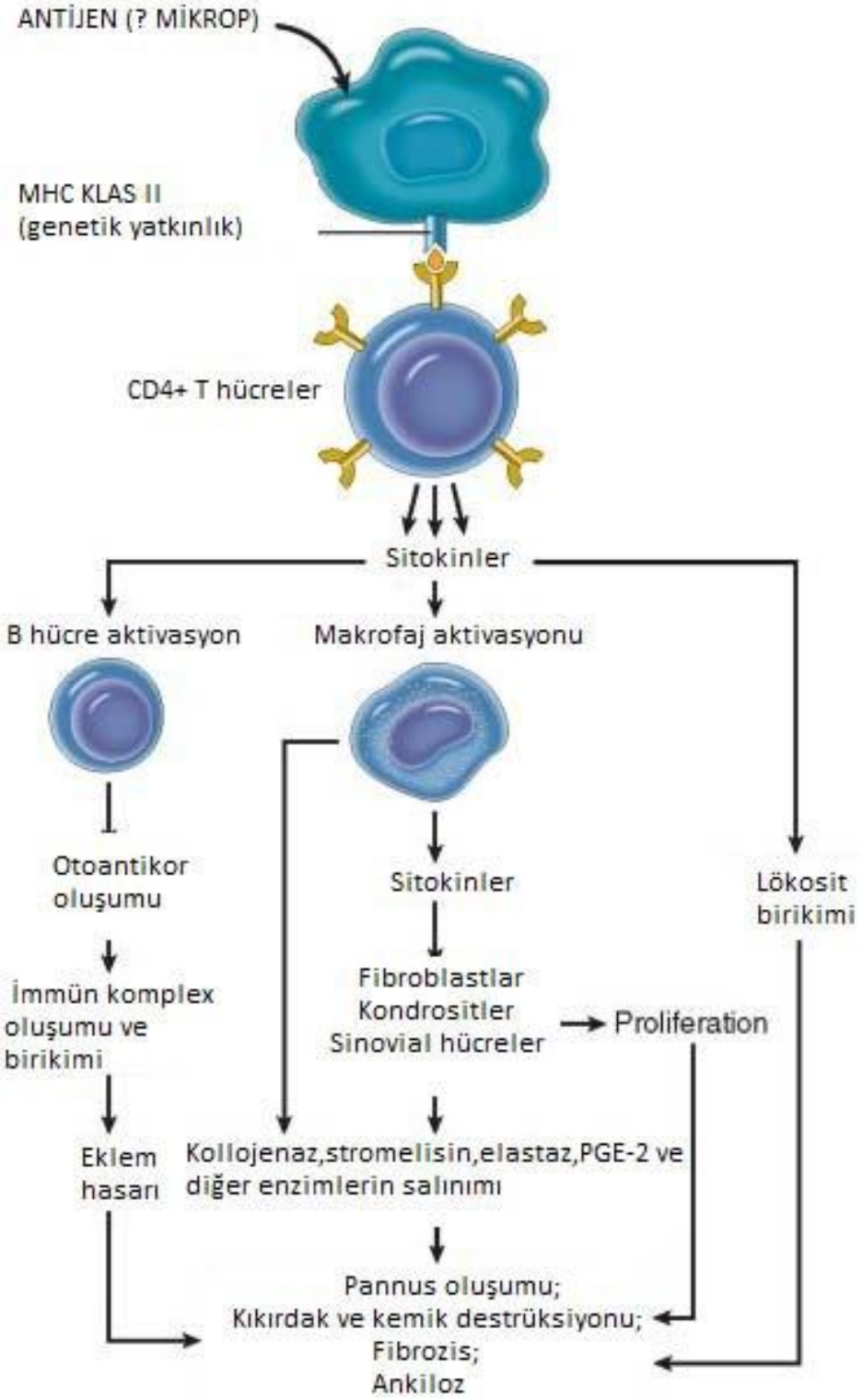
etkilediği sanılmaktadır. Zeytinyağı ve balıkyağı tüketimi RA'ye karşı koruyucu etkisi olmasına karşın selenyum, bakır gibi minerallerin eksikliği ve aşırı kahve tüketiminin RA oluşumuna katkı sağladığı rapor edilmiştir. Ayrıca obezitede RA için bir risk faktörüdür (13, 21, 22).

#### **2.1.4.3. Enfeksiyöz ajanlar**

Enfeksiyöz ajanların, RA'in etyolojisindeki rolü günümüze kadar hep tartışılmasına rağmen henüz RA etyolojisinde rol oynayan herhangi bir mikroorganizma tanımlanamamıştır. Özellikle *Mycoplasma*, *Erysipelothrix*, Epstein-Barr virüsü, parvovirüs B19 ve kızamıkçıkdan kuşkulunmuş fakat bunların hiçbiri epidemiyolojik araştırmalarda desteklenememiştir. Bununla birlikte en azından, tetrasiklin antibiyotiklerinin gösterdiği immünomodüler özellikler RA'in iyileşmesinde önemli oranda katkısı bulunabilir. Fakat mikrobik antijenler ile konak antijenler arasında bazı yakınlıklar tespit edilmiştir. Bu yakınlıktan dolayı otoreaktivite gelişerek, self toleransın kırılması ile RA gibi bazı oto-immün hastalıklar oluşabilir (23).

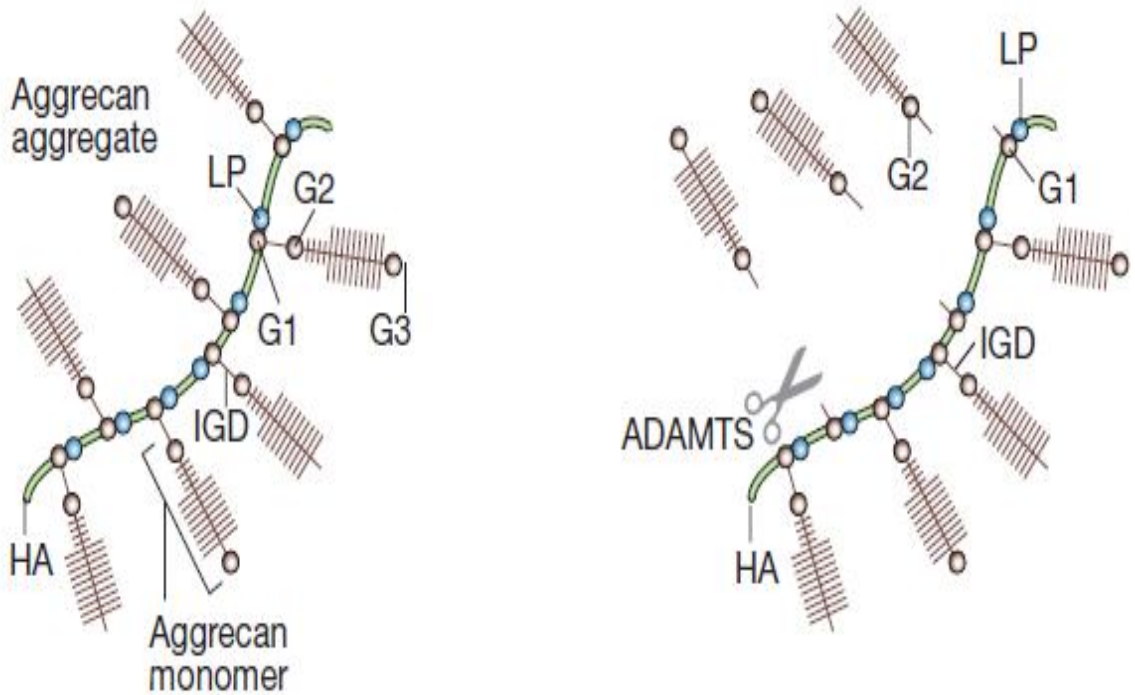
#### **2.1.5. Patogenez ve patoloji**

RA, primer olarak sinovyal sıvıda başlayan bir oto-immün hastalık olduğu bilinmesine rağmen hastalığı başlatan asıl faktörlerin ne olduğu bilinmemektedir. Fakat patogenezinde hem hümmoral hem de hücrel bağışıklık mekanizmaların rol oynadığına dair birçok kanıt mevcuttur. Özellikle CD4 pozitif T lenfositlerin patogenezde önemli görevler üstlendiği düşünülmektedir. Makrofaj, dentritik hücre, tip A sinoviyosit, B lenfositler gibi DR pozitif hücreler, antijen sunarak T lenfosit hücrelerini aktif hale getirirler. Bu aktifleşme sonucunda proinflatuar sitokinler ortama salınır ve inflamasyon tetiklenir. Bu sitokinler agrekanaz ve kollejenaz gibi proteaz enzimlerini aktifleştirmek suretiyle kıkırdak-kemik harabiyetine sebep olurlar. Bu hasara yol açan sitokinlerin en önemlileri tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ), Interlökin-1b (IL-1b), IL-6, IL-8 ve IL-15 interlökinleridir. Enflamatuvar reaksiyon oluşuktan sonra, sinovyum kalınlaşır, kıkırdak ve altta yatan kemik parçalanmaya başlar (2, 24).



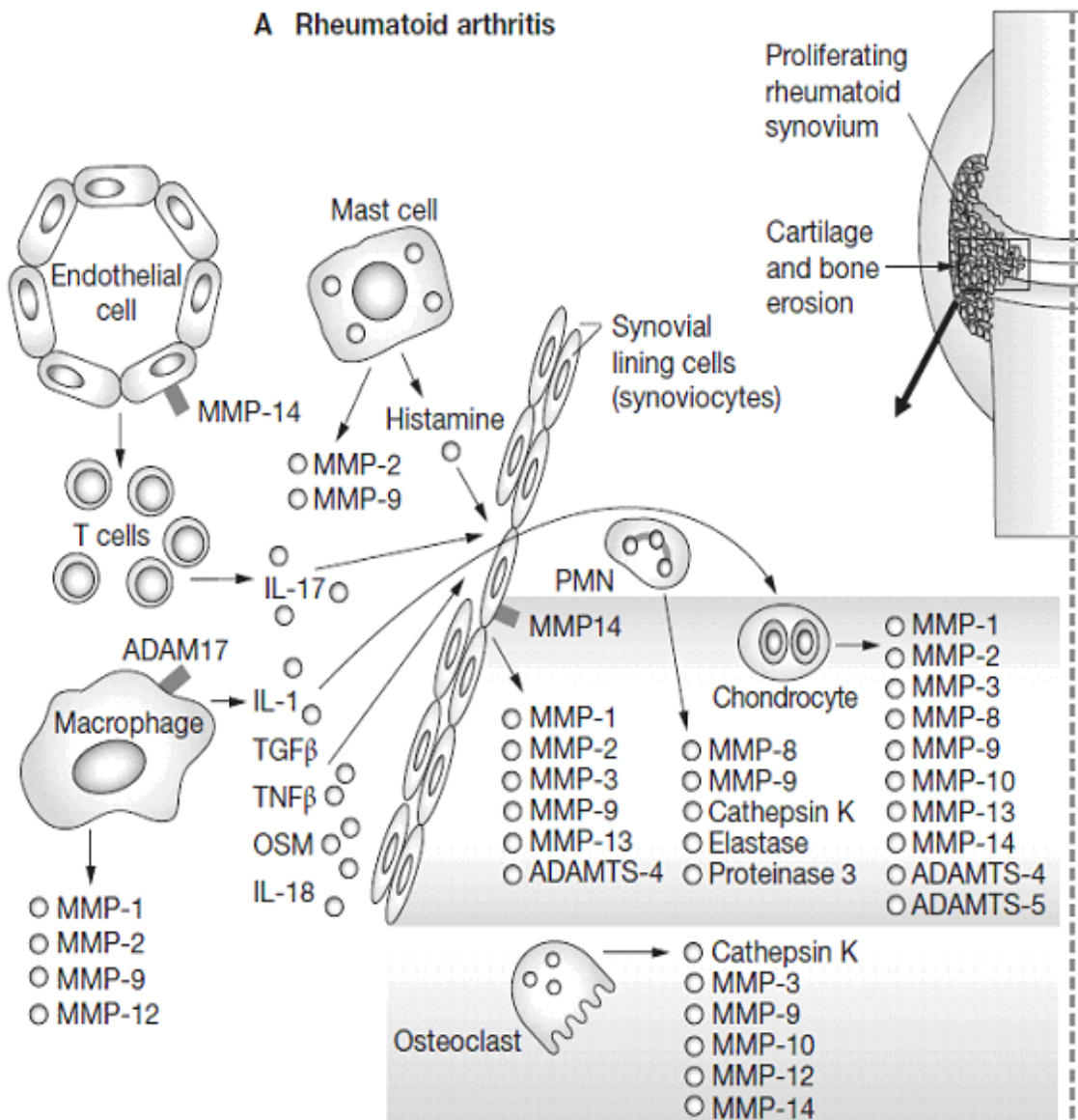
Şekil 2.2- Romatoid artrit patogenezi (2)

RA'in patogenezi tam olarak açıklığa kavuşturulamamasına karşın oluşan inflamasyonun aktive ettiği proteazların kıkırdak dokuyu parçalaması, RA'in erken dönemlerinde olduğu bilinen hayati bir olaydır (25, 26). Özel bir doku olan artiküler kıkırdak doku sinovyal eklemlerin yüzeyini kaplar ve kayganlaştırıcı rolüyle mekanik yüklemeleri absorbe etme özelliğine sahiptir. Artiküler kıkırdak doku, hücre dışı matriksin devamlılığının sağlanmasından sorumlu az sayıda kondrosit hücresi ve hücre dışı matriks bileşenlerinden meydana gelir (27, 28). Kıkırdak dokunun basıncı absorbe etme özeliği yapısında bulunan agrekan proteoglikanın negatif yük taşımasıdır. Agrekanın yapısındaki kondroitin sülfat negatif yüklüdür ve katyon formunda bulunan su molekülleriyle etkileşime girerek kıkırdak dokunun şişmesini sağlar. Hacimce bu artış, kıkırdak dokuya mekanik yüklemelere karşı basıncı absorbe etme özeliği kazandırır (29-31). Inflamasyonun tetiklediği agrekan proteoglikanın proteaz enzimleri tarafından tek yönlü hidrolizi RA'in patogenezinde olan hayati öneme sahip bir olaydır (Şekil 2.3). Bu yıkımdan birinci dereceden sorumlu enzimler ADAMTS enzimleridir. Parçalanan agrekanın tamiri günümüzde varolan yöntemlerle mümkün olmadığından bu olay RA'in tedavisi için önlenmesi gereken önemli bir olaydır. RA'in tedavisinde kullanılmak üzere yeni stratejilerin geliştirilmesi bu olayın etyolojisinde olması muhtemel yeni ajanların araştırılmasını gerekli kılmıştır. (32, 33).



Şekil 2.3- Agrekanın ADAMTSs enzimleri tarafından yıkımı (32)

ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs) enzim ailesi, 19 üyesi olan vücudumuzda çok sayıda fizyolojik süreçte önemli görevler ifa eden bir peptidaz enzim ailesidir. Bu enzim ailesinden ADAMTS -1, -4, -5 ve -9 agrekan proteoglikanını parçalayabilme özeliğine sahip olduğundan agrekanaz olarak adlandırılmaktadır. Agrekanazlar, RA'de agrekanın parçalanmasından birincil derecede sorumlu enzimlerdir. Normal şartlarda kıkırdak dokusunun tamirinde görev alan bu enzimler, RA'de sitokinler tarafından uyarılmasıyla aşırı ifade olur ve kıkırdak dokunun parçalanmasına sebep olur (32, 34, 35).



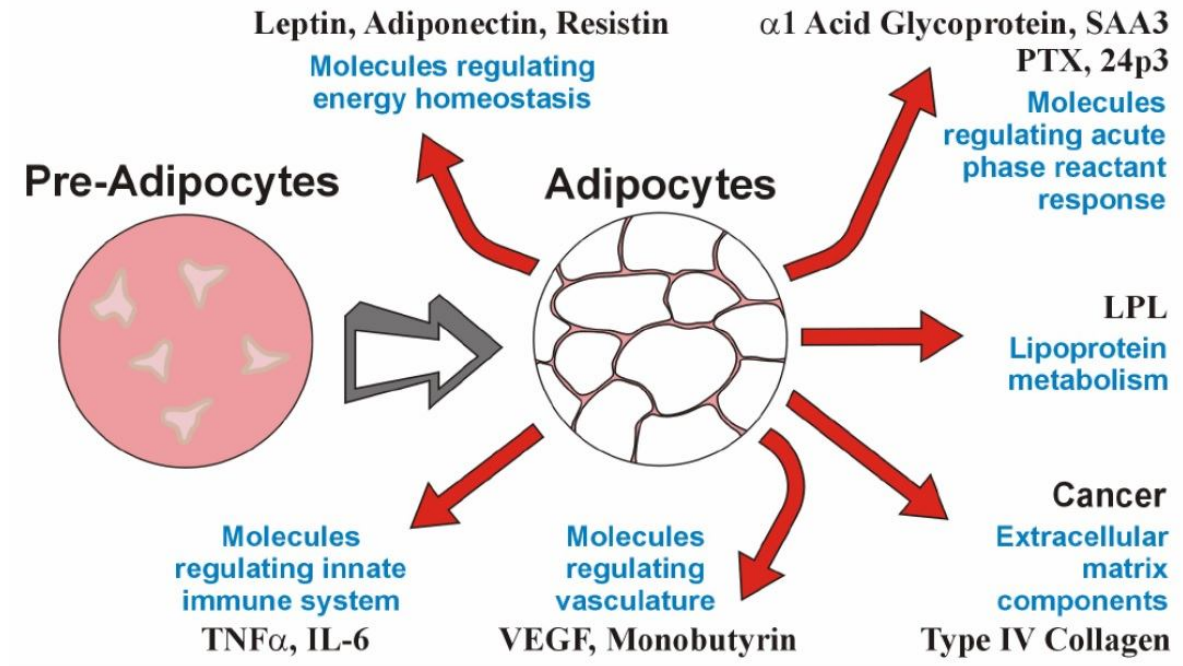
Şekil 2.4- Metaloproteinazların romatoid artritte oluşturduğu eklem harabiyeti (5)

Yapılan çok sayıdaki araştırmada obezite ile romatizmal hastalıklar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Obezitenin getirmiş olduğu aşırı mekanik yüklemenin yanı sıra beyaz adipoz doku tarafından salgılanan adipokinlerin (adipositokinlerin) osteoartrit ve romatoid artrit gibi romatizmal hastalıkların etyolojisinde kritik rol aldığı düşünülmektedir (36).

## **2.2. Adipoz Doku**

### **2.2.1. Adipoz Dokunun Tanımı ve Fonksiyonları**

Adipoz doku, bağ dokusunun özel bir tipi olmakla birlikte kendisine ait sinir uyarımı ve damarlanma sistemi vardır. İnsanda adipoz doku; cilt altında, iç organların çevresinde, kemik iliğinde ve meme dokusunda bulur. Aşırı alınan besinler, trigliserit formunda adipoz dokuda depolanır. Adipoz dokuda makrofajlar, fibroblastlar ve endotel vb hücreler bulunmasına karşın en fazla adiposit hücreleri bulunmaktadır. Adipoz doku bu hücrelerin içerdiği lipit damlacıklarına göre beyaz (uniloküler) ve kahverengi (multiokler) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Beyaz adipositler enerji depolanmasıyla ilgiliyken kahverengi adipositler enerjinin yayılımıyla ilgilidirler. Yapılan araştırmalarda adipoz dokunun, enerji depolama görevinin yanısıra otokrin, parakrin ve endokrin etkilere sahip adipokinleri (adipositokin) salgıladığı bulunmuştur. Sitokinler vcttaki bütün çekirdekli hücrelerden salgılanabilen pleiotropik düzenleyici peptidlerdir. Sitokinlerin bir alt türü olan bu adipokinlerin birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli görevler ifa ettiği tespit edilmiştir. Bunun yanısıra adipoz dokudaki artışla birlikte bazı hastalıkların insidansının arttığı bilindiğinden adipoz doku bir endokrin organ gibi düşünülmektedir (37 - 39). Adipoz doku tarafından salgılanan adipokinler ve bunların tanımlanabilmiş fonksiyonları Şekil 2.5'te Őematize edilmiştir (40)



Şekil 2.5- Adipokinler ve fonksiyonları

### 2.2.2. Leptin

1994 yılında Zang ve arkadaşları tarafından bulunan leptin, adipositokin olarak tanımlanan ilk moleküldür (41). Leptin 167 aminoasitten meydana gelir ve moleküler ağırlığı 16kDa'dur. Kanda serbest ve bağlı olmak üzere iki formda da bulunabilir (42, 43). Başlıca yağ dokusunda salgılanan leptin endokrin sistemde, kemik oluşumunda, üreme sisteminde ve immün sistemde etkin rol oynamaktadır (44). Leptin proteini vücuttaki enerji durumuna bağlı olarak yağ hücrelerinde sentezlenir ve salgılanır (45). Leptin, ayrıca vücut lipit metabolizması, hematopoez, (46) pankreatik beta hücre fonksiyonu, (47) ovarial hücre fonksiyonu (48) gibi farklı doku ve sistemler üzerine de etkilidir (49). Leptinin en önemli fonksiyonu vücuttaki yağ miktarını sabit tutmaktır (50). Obezite ile birlikte artan leptin miktarının sebep olduğu inflamasyon RA gibi inflamatuvar hastalıklara sebep olduğu düşünülmektedir (51). Yapılan araştırmalarda leptinin RA hastaların serum seviyelerinde fazla olduğu bulunmuştur (52). Ayrıca leptinin romatoid sinoviyal fibroblast (RSF) hücresinde interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-6 (IL-6) sitokinlerinin ifade düzeylerini arttırdığı rapor edilmiştir (53, 54). Tavşan modelinde de leptinin, kıkırdak doku için katabolik etki gösteren Matriks Metallo Proteinaz (MMP)-2 ve -9 genlerinin ifade seviyesini arttırdığı bulunmuştur (55).

### 2.2.3. Adiponektin

Adiponektin ilk defa 1996 yılında Maeda ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Başlıca beyaz adipositlerden salınan adiponektin proteini 244 aminoasitten oluşur ve 30 KDa ağırlığındadır. Adiponektin geni ise 3q27'de lokalizedir, 3 ekzon ve 2 introndan oluşmaktadır (56, 57). Yapılan klinik çalışmalarda adiponektin düzeyinin tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve koroner arter gibi hastalıklarda düşük seviyede olduğu bulunduğundan anti-inflamatuar etki gösterdiği düşünülmektedir (58, 62). Adipoz doku tarafından en fazla sentezlenen adiponektin diğer adipokinlerin aksine obez bireylerde normale göre daha düşük seviyededir (63). Bugüne kadar yapılan araştırmalarda adiponektin seviyesinin RA hastaların serumlarında (64-66) ve sinovyal sıvılarında (67) arttığı bulunmuştur. Ayrıca adiponektinin RA'nın şiddetiyle orantılı olarak değiştiği rapor edilmiştir (68). Bunun tam tersine adiponektin seviyesinin RA hastalarında azaldığına dair bulgulara vardır. Bu sonuçlar ışığı altında adiponektinin hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar özellik gösterdiği bilindiğinden, adiponektinin RA hastalığındaki muhtemel rolü daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır (69). Son zamanlarda yapılan daha detaylı araştırmalarda adiponektinin RA hastalığında olan kırıkta yıkımında inflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmektedir (70). Yine adiponektinin sinoviyal fibroblast hücrelerinde interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-6 (IL-6) sitokinlerinin ifade düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (71, 72). Bu sonuçlar adiponektini RA pathogenezinde rol alan potansiyel bir hedef haline getirmiştir (73).

### 2.2.4. Rezistin

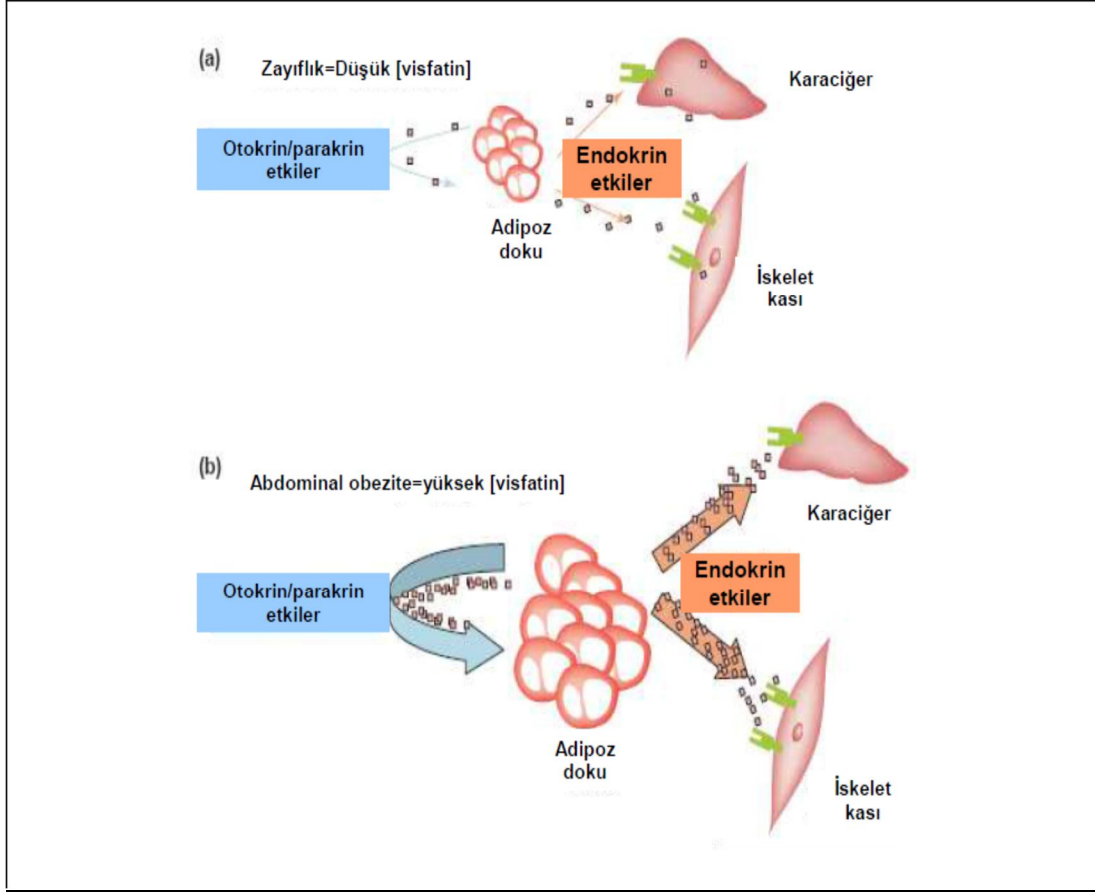
2001 yılında ilk defa insülin direnciyle ilişkilendirilerek tanımlanan rezistin, başlıca yağ dokusu olmak üzere çeşitli dokular tarafından sentezlenir. 12,5 kDa ağırlığındaki bir protein olan rezistin 114 amino asitli sisteince zengin bir polipeptitten oluşmaktadır (74, 75). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda rezistinin inflamasyonla olan korelasyonunun insülin rezistansına göre daha iyi olduğu ve ayrıca obezlerde rezistin miktarının arttığı bulunduğundan obeziteyle birlikte gelen inflamatuvar patolojik süreçler için hedef haline gelmiştir (75-77). RA, obeziteyle birlikte artan insidansa sahip inflamatuvar bir hastalık olduğundan rezistinin RA pathogenezindeki muhtemel rolü farklı gruplarca araştırılmaktadır. Rezistin NF- $\kappa$ B yolağı aracılığıyla RA'nın



patogenezinde rol aldığı düşünölen inflamatuvar IL-1, IL-6, IL-12 ve TNF sitokinlerinin ifade düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (78, 79). Yapılan araştırmalarda rezistinin seviyesinin RA'li hastaların serum ve sinoviyal sıvılarında arttığını rapor edilmiştir (80). Ayrıca buna paralel olarak serum resistin seviyesinin çocuk idiyomatik artrit hastalarında arttıgıda rapor edilmiştir (81).

### **2.2.5. Visfatin**

B lenfosit öncülleri için bir büyüme faktörü olarak tanımlanan ve pre-B-cell enhancing factor 1 (PBEF1) olarak adlandırılan visfatin ilk olarak 1994 yılında Samal ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Fakat 2005 yılında Fukuhara ve arkadaşları tarafından adipoz doku tarafından salgılandığı ispatlayarak visfatin adını almış ve adipokin olarak anılmaya başlanmıştır (82, 83). 52 KDa ağırlığındaki bu adipokinin adipoz doku artışıyla birlikte artmaktadır ve insulin benzeri bir karakteristiğe sahip olduğundan insülin direncinde rol oynar. Yapılan araştırmalarda tip II diyabet hastalarında plazma visfatin seviyelerinin arttığı bulunmuştur. (84-86). Visfatin sahip olduğu özellikler ile adipoz doku üzerinde otokrin/parakrin fonksiyonun yanısıra periferik organlar üzerinde insülin duyarlılığını düzenleyen endokrin etkisi vardır (Şekil 2.6) Ayrıca çeşitli inflamatuvar süreçlerde ve RA gibi inflamatuvar hastalıklarda rol aldığı ispatlandığından RA için bir hedef haline gelmiştir (87-89). Visfatin ve RA arasındaki muhtemel ilişkiyi inceleyen birçok araştırmada, serum visfatin seviyesinin RA hastalarında hem de hastalık şiddetiyle doğru orantılı şekilde arttığı rapor edilmiştir (90-93). Yine yapılan bir araştırmada visfatinin agrekanaz ve matriks metalloproteinaz enzimleri üzerine indükleyici etkiye sahip olduğu bulunduğundan, visfatin RA tedavisi için bir hedef haline gelmiştir (94).



**Şekil 2.6-** Visseral yağ dokusu ve visfatin

### 2.2.6. Omentin

2004 yılında yeni bir cDNA olarak ilk defa rapor edilen omentin geni 2005 yılında tam olarak karakterize edilmiştir. 8 ekzon ve 7 intron bölgesinden oluşan omentin geni 1q21.3 bölgesinde bulunmaktadır (95, 96). Omentin-1 ve omentin-2 genleri tarafından kodlanan omentin proteininin 2 ayrı izoformu vardır. Omentin proteini, 295 aminoasitten oluşur ve 40 kDa'luk 3 polipeptidin disülfit bağıyla bağlanarak 120 kDa'luk bir homotrimerdir (97, 98). Omentin adipokini başlıca insülin metabolizmasında rol aldığı ispatlanmıştır (99, 101). Diğer adipokinlerin aksine omentin obezitenin artmasıyla ters orantılı olarak azaldığı ve kilo kaybına müteakip arttığı rapor edilmiştir (102, 103). Elde edilen ilk veriler omentinin anti-inflamatuvar özellik gösterdiği fikri yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan araştırmalarda inflamatuvar özellik gösteren koroner arter ve psoriasis gibi hastalıklarda omentin serum seviyesinin azaldığı rapor edilmiştir (104-106). Ayrıca metabolik sendromlu hastalarda azaldığında Jialal ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (107). RA ile omentin arasındaki muhtemel ilişkiyi

inceleyen bir araştırmada RA hastaların serum omentin seviyesinin osteoartritli hastaların serum omentin seviyesine göre daha düşük çıkmıştır (108). Omentinin karakteristik özelliğini inceleyen detaylı araştırmalar sonucunda omentinin anti-inflamatuar özelik göstermek suretiyle birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynadığı kesinleşmiştir (109-111). Fakat omentin ile RA arasındaki muhtemel ilişki net bir şekilde ortaya koyulmadığından bu çalışmada omentinin RA'li hastaların serum seviyelerinin araştırılması ve omentin Val109Asp gen polimorfizminin RA hastalarındaki insidansının araştırılması amaçlanmıştır.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Çalışma Grubunun Tanımlanması**

Çalışma, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yürütülmüş olup Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dallarının katılımı ile gerçekleştirildi. Bu çalışma kapsamında; romatoid artrit tanısı konulan, 45 bireyden oluşan hasta grubu ve romatoid artrit tanısı konulmamış, 42 bireyden oluşan kontrol grubu olmak üzere iki grup meydana getirildi. Çalışmaya katılacak bireylere çalışma hakkında bilgi verildi ve çalışmaya katılım için yazılı onay alındı. Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylerin yaş, cinsiyet, boy, kilo, göbek ve kalça çevresi gibi bilgilerinin yanı sıra biyokimya değerleri de kaydedildi. Romatoid artrit hastalarından, biri EDTA'lı (2 cc) diğeri ise biyokimyasal tüp olmak üzere 2 tüp kan alındı. Hasta ve kontrol grubundaki bireylere ait periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıp, omentin geninde Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) olup olmadığı PZR-RFLP (Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism) yöntemiyle araştırıldı. Alınan biyokimyasal tüpler ise oda sıcaklığında 10 dakika 3000 rpm de santrifüj edilerek serum kısımları ayrıldı ve serumlar çalışılacak ana kadar -80 0 C muhafaza edildi. Serumdaki omentin seviyesi, ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle ölçüldü.

#### **3.2. Kullanılan Kimyasallar**

Periferik kandan DNA izolasyon kiti (İnvitrogen PureLink Genomik DNA Mini Kit, USA), Agaroz (Sigma), DNA marker (Sigma), Etidyum Bromid (Sigma), Primerler (İnvitrogen), Taq polimeraz (Fermentas), Etanol (J.T Baker), dNTP set (Fermentas), Restriksiyon enzimleri (10U/µl Fermentas), Yükleme boyası 6X (Fermentas), 10X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE) (SantaCruz).

#### **3.3. Kullanılan Gereçler**

Elektroforez (Cleaver Mini Yatay MOD.-MSMIDID40), Elektroforez için güç kaynağı (Cleaver-MP-250N), Jel görüntüleme sistemi (L-PIX Loccus Biotechnologia),

Mikrosantrifüj (Eppendorf Centrifuge-5415 R), Termo blok (Eppendorf- TermoStat Plus (1.5 ml)), Vorteks (IKA- MS 1), Hassas terazi (BOECO- BEB 43), Saf su cihazı (TKA- Pacific), Etüv (Heraeus), Buzdolabı (Vestel-Beko ), PZR cihazı (BIO-RAD), Pipet takımı (Eppendorf), Mikrodalga fırın (Vestel), UV (Syngene, UK), Rotary mikrotom (LEICA RM2145), Otoklav (TOMY SX-500E), Pipet ucu, Ependorf tüp, PZR tüpü.

### **3.4. Agaroz Jel Elektroforezinde kullanılan Çözeltiler**

#### **3.4.1. Etidyum Bromür (10 mg/ml)**

1 gram Etidyum bromür tartılarak steril distile su ile 10 mililitreye tamamlandı.

#### **3.4.2. 1X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)**

100 ml TBE tamponunun (10X) üzerine 900 ml steril distile su ilave edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

#### **3.4.3. Yükleme Tamponu (Loading Dye)**

10 mM Tris-HCl (pH 7.6), %0.03 bromofenol mavisi, %0.03 ksilen siyanol FF, %60 gliserol 60 mM EDTA içermektedir.

### **3.5. Kullanılan Yöntemler**

#### **3.5.1. Periferik kandan DNA izolasyonu**

Periferik kandan DNA izolasyonu İnvitrogen PureLink Genomik DNA Mini Kit (USA) kullanılarak yapıldı. DNA izolasyonu 18 basamakta gerçekleşti;

1. 200 µl kan örneği ependorf tüpe alındı.
2. 20 µl proteinaz K eklendi.
3. 20 µl RNase A eklendi. Vorteks yapıldı ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

4. 200 µl genomik lizis/binding buffer eklendi ve vorteks yapıldı.
5. 55 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
6. 200 µl 96-100'lük etanol eklendi ve 5 saniye vorteks yapıldı.
7. Karışım filtreli tüpe alındı.
8. 12000 rpm'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi.
9. Filtreli kısım başka bir tüpe alındı.
10. 500 µl yıkama tamponu 1(Wash buffer 1) eklendi.
11. 12000 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildi.
12. Filtreli kısım başka bir tüpe alındı.
13. 500 µl yıkama tamponu 2 (Wash buffer 2) eklendi.
14. Oda sıcaklığında 12000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.
15. Filtreli kısım 1.5 ml'lik ependorf tüpe alındı.
16. 100 µl genomik elution buffer eklendi.
17. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakıldı.
18. 12000 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildi. Filtre çıkarılarak atıldı ve elde edilen DNA çalışma gününe kadar -20 °C'de saklandı.

### 3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Hasta ve kontrol grubundaki Omentin geninin 4. ekzonunda bulunan missense Val109Asp polimorfizmi;

F;5'-GAGCCTTTAGGCCATGTCTCT-3', R;5'-CTCTCCTTCTTCTCCAGCCCAT-3' primerler kullanılarak PZR yöntemiyle analiz edildi.

PZR'ları, Bioneer MyGenie 96 thermal block PZR profili kullanılarak tek aşamada gerçekleştirildi. PZR koşulları;

- DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (Fermentas EP0402)

PZR reaksiyonundaki son konsantrasyonu 1 unite olacak şekilde 25 µl lik PZR reaksiyonuna eklendi.

- dNTP'ler (4x25 µmol) (Fermentas R0181)

100 mM'lık dNTP'lerden (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) 10'ar µl alınıp (toplam 40 µl) 500 µl'lik tüpe kondu. Üzerine 460 µl distile su eklenerek 500 µl 2 mM'lık dNTP

karişımı hazırlandı ve -20 °C’de saklandı. PZR reaksiyonuda bu stoktan alınan dNTP karişımı kullanıldı.

Toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde aşığıdaki bileşenler sırası ile steril ependorfa konuldu.

- 3 µl 10X PZR tamponu
- 1,2 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM)
- 3 µl dNTP (2 mM)
- 1 µl 10 pmol ileri primer
- 1 µl 10 pmol geri primer
- 12,3 µl dH<sub>2</sub>O
- 0,5 µl DNA Taq Polimeraz enzimi (5 U/ µl)
- 3µl genomik DNA (150-200 ng)

Taq polimeraz eklendikten sonra vakit kaybetmeden tüp içine koyulan bileşenlerin iyice karişması için pipetleme işlemleri yapıldı. Daha sonra örnek sayısı kadar 0.2 ml’lik tüplere PZR karişımından 22,0 µl dağıtıldı. Her tüpe 3 µl DNA eklenerek pipetleme işlemleri yeniden yapıldı. PZR cihazına örnekler yerleştirildi ve PZR işlemleri başlatıldı.

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
<b>İlk Denatürasyon</b>	95	5 dakika	1
<b>Denatürasyon</b>	94	1 dakika	35
<b>Bağlanma (Annealing)</b>	58	1 dakika	
<b>Uzama (Extension)</b>	72	1 dakika	
<b>Son Uzama</b>	72	10 dakika	1
<b>Soğutma</b>	4	-	-

**Tablo 3.1.** Omentin Val109Asp polimorfizmi için PZR koşulları

### **3.5.3. %2'lik agaroz jel hazırlanması**

- 2 gr. agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 100 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözüldürüldü.
- Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde çözünmüş agaroz jel içine 2,5 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklendi.
- Yükleme kuyucuklarının oluşması için jel yatağına tarak yerleştirildi ve hazırlanan jel yavaşça hava kabarcığı oluşmayacak şekilde jel yatağına döküldü. Jel donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

### **3.5.4. PZR ürünlerinin %2'lik jele yüklenmesi**

- %2'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde koyuldu.
- Agaroz jelin üzerini 2-3 ml gelecek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi.
- 5 µl PZR ürününe, 1 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 6 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.

Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (Cleaver-MP-250N) 100 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi. Yürütme işlemi 30 dakika sürdü.

#### **3.5.4.1. PZR ürünlerinin kontrolü**

Omentin ile ilgili gen bölgelerinin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacıyla PZR tüplerinden alınan 5 µl örnek 1 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yukarıda anlatılan elektroforez sisteminde yürütüldü. Yükleme işlemi sonrasında jel UV ışık altında PZR ürünleri incelendi.



### **3.5.5. Val109Asp gen polimorfizminde enzim kesimi**

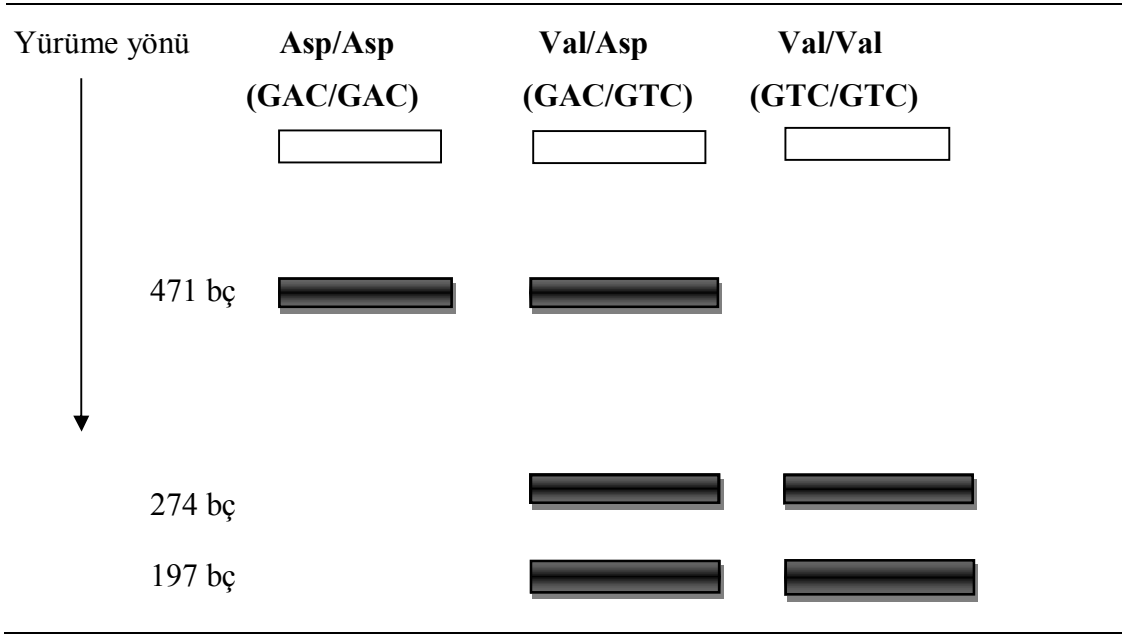
Amplifiye olan PZR ürünleri AccI (Fermentas FastDigest FD0264) enzimi ile 37°C sıcaklıkta yaklaşık 24 saat inkübe edildi. Kesim işleminde bir örnek için 5 µl PZR amplifikasyon ürünü, 17 µl distile su, 2 µl 10X FastDigest green buffer ve 1 µl AccI enzim kullanılarak toplamda 25 µl mix hazırlandı.

### **3.5.6. Val109Asp gen polimorfizminin değerlendirilmesi ve kontrolü**

- %2lik agaroz jel hazırlandı.
- İlgili kesim enzimleri ile kesilen PZR ürünlerinden 5 µl alınarak %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri (Sigma 50 bp marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.
- Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, UV ışık altında incelendi.

### **3.5.7. Val109Asp gen polimorfizminin değerlendirilmesi**

Restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizminin tespit edilebilmesi için PZR sonucunda elde edilen amplikonlar, Ekzon 4 içindeki Valini kodlayan polimorfik GTC kodonu AccI tanıma bölgesinin parçasıdır. GAC kodonu AccI tanıma bölgesini ortadan kaldırır. Böylece RFLP sonrası agaroz jel elektroforezinde Val/Val homozigot olduğu durumda iki bant (274+197 bç); Val/Asp heterozigot olduğu durumlarda üç bant (471+274+197 bç); Asp/Asp homozigot olduğu durumlarda tek bant (471) gözlemlendi.



Şekil.3.1. Omentin Val109Asp A/T gen polimorfizminin şematik jel görüntüsü

### 3.6. ELISA

Hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerden alınan kandan serum elde edildi. Serumlarındaki omentin protein seviyesi ELISA yöntemiyle aşağıdaki gibi yapıldı.

#### Hazırlık safhası;

- Toplam süresi yaklaşık 3,5 saat - Kitteki tüm kimyasallar kullanmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
- **Wash Solution (10X) (100 ml)**; 100 ml Wash Sol + 900 ml distile H<sub>2</sub>O eklendi.
- **Quality Control High (liyofilize)**; 500 µl Dilution Buffer, 1 tüpe eklendi (hafifçe sallayarak en az 15 dk beklendi)
- **Quality Control Low (liyofilize)**; 500 µl Dilution Buffer, 1 tüpe eklendi (hafifçe sallayarak en az 15 dk beklendi)
- **Biotin Labelled Antibody (50X) (280 µl)**; (96 kuyu için toplam 9600 µl) 250 µl Biotin Labelled Antibody alınarak 12.250 µl Biotin-Ab Diluente eklenerek toplam 12.500 µl hazırlandı.

#### Masterin hazırlanışı;

- **64 ng/ml**; 1300 µl Dilution Buffer 1 master standart tüpüne eklendi (tüpü hafifçe sallayarak en az 15 dk beklendi)

- **32 ng/ml**; 250 µl 64 ng/ml + 250 µl Dilution Buffer eklendi
- **16 ng/ml**; 250 µl 32 ng/ml + 250 µl Dilution Buffer eklendi
- **8 ng/ml** ; 250 µl 16 ng/ml + 250 µl Dilution Buffer eklendi
- **4 ng/ml** ; 250 µl 8 ng/ml + 250 µl Dilution Buffer eklendi
- **2 ng/ml** ; 250 µl 4 ng/ml + 250 µl Dilution Buffer eklendi

#### **Prosedür;**

- Seyreltilmiş standartlardan, kalite kontrollerden, blanktan ve numunelerden 100 µl'şer alınıp kuyulara eklenir.
- 37°C'de, 120 dakika inkübe edilir. (çalkalama, sarsma)
- Her kuyuya 350 µl Wash Solüsyonu ekleyerek yıkanır.
- Yıkama işini 3 defa tekrarla. Son yıkamadan sonra plate ters çevirerek kağıt havlu üzerine hızlıca vurulur.
- Her kuyuya 100 µl Biotin Labelled Antibody solüsyonundan eklenir.
- 37°C'de, 30 dakika inkübe edilir. (çalkalama, sarsma)
- Her kuyuya 350 µl Wash Solüsyonu ekleyerek yıkanır.
- Yıkama işini 3 defa tekrarla. Son yıkamadan sonra plate ters çevirerek kağıt havlu üzerine hızlıca vurulur.
- Her kuyuya 100 µl Streptavidin-HRP Conjugate (hazır, toplam 13.000 µl) solüsyonundan eklenir.
- 37°C'de, 30 dakika inkübe edilir. (çalkalama, sarsma)
- Her kuyuya 350 µl Wash Solüsyonu ekleyerek yıkanır.
- Yıkama işini 3 defa tekrarla. Son yıkamadan sonra plate ters çevirerek kağıt havlu üzerine hızlıca vurulur.
- Her kuyuya 100 µl Substrat (Hazır, toplam 13.000 µl) solüsyonundan ekle. Bu aşamada plate direk olarak ışığa temas etmemelidir. Alüminyum folyo ile sarılması tavsiye edilir. (Çalkalama, sarsma)
- Oda Sıcaklığında, 10 dakika inkübe edilir. (Oda Sıcaklığı 20°C'dan aşağı ise 20 dk'ya kadar inkübe edilebilir)
- 100 µl Stop (Hazır, toplam 13.000 µl) solüsyonu ekleyerek renk oluşumunu durdurulur.
- Stop solüsyonu eklendikten en geç 5 dk içinde absorbans okunmalıdır

### **3.7. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel analizler PASW 18 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA for Windows 18,0 vers.) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. İki gruptaki kategorik değişkenler Pearson Ki-kare testi kullanılarak yapıldı. İki gruptaki normal dağılım değişkenleri t-testi kullanılarak yapıldı ve bu değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Sürekli değişkenler normal dağılıma sahip değilse, Man Whitney U testi kullanıldı ve veriler ortanca (minimum - maksimum) olacak şekilde verildi. 0.05'te küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Kontrol ve hasta gruplarının karakteristik özellikleri ve laboratuvar parametreleri Tablo 4.1 de verilmiştir. Çalışma popülasyonu, yaş ortalaması  $50,24 \pm 12,84$  olan 87 vakadan meydana gelmektedir. 45 vakadan oluşan RA grubunun yaş ortalaması  $49,84 \pm 13,42$  iken 42 vakadan oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması  $50,67 \pm 12,22$ 'dir. İki grup arasında yaş, ağırlık ve boy özellikleri arasında anlamlı bir istatistik bulunmadı. ( $p>0,05$ )

**Tablo 4.1.** Hasta ve kontrol gruplarının demografik ve laboratuvar özellikleri

DEĞİŞKEN	TOPLAM (87)	RA (45)	Kontrol (42)	p
Yaş (Yıl)	$50,24 \pm 12,84$	$50,67 \pm 12,22$	$49,84 \pm 13,42$	0,762
Ağırlık (kg)	$77,18 \pm 15,66$	$76,18 \pm 15,13$	$78,11 \pm 16,17$	0,562
Boy (cm)	$162,8 \pm 9,57$	$162,42 \pm 9,78$	$163,27 \pm 9,37$	0,677
WBC	$6,94 \pm 2,03$	$7,25 \pm 2,41$	$6,65 \pm 1,68$	0,175
Hemoglobin	13,15 (9,48-121)	13,1 (9,48-121)	13,2 (10,04-15,96)	0,835
Sedimentasyon	$21,47 \pm 17,48$	$27,88 \pm 24,00$	$16,59 \pm 11,39$	0,006
Glukoz (mg/dL)	$978,76 \pm 15,47$	$98,14 \pm 15,41$	$97,41 \pm 15,52$	0,827
Trigliserid (mg/dL)	109,24 (42-747)	102 (50-250)	116 (42 - 747)	0,263
Toplam Kolesterol	$197,7 \pm 38,08$	$196,4 \pm 42,69$	$199,02 \pm 33,78$	0,753
HDL (mg/dL)	$50,9 \pm 14,54$	$55,67 \pm 16,67$	$46,45 \pm 12,56$	0,005
LDL (mg/dL)	118,5 (43,4-198,2)	111,6 (43,4-198,2)	125 (65,6-178)	0,182
CRP	$1,03 \pm 2,15$	$1,7 \pm 4,06$	$0,41 \pm 0,38$	0,036
RF	$27,32 \pm 28,23$	$45,78 \pm 57,8$	$10,10 \pm 0,63$	0,228
İnsulin	9,35 (2,46-535)	8,81 (2,93-535)	9,85 (2,46-61,78)	0,659
Omentin	512,6 (47,8-2181,8)	539,4 (47,8-2181,8)	487,6 (279,4-784,9)	0,259

HDL: High Density Lipoprotein, LDL: Low Density Lipoprotein,

RF: Romatoid Faktör, CRP: C-Reaktif Protein, WBC: Beyaz Kan Hücresi

İki grup arasında beyaz kan hücreleri (WBC), glukoz, trigliserit, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein(LDL) ve insülin gibi bazı laboratuvar parametreleri arasında anlamlı bir istatistik bulunamadı ( $p>0,05$ ). Ancak hasta grubunda yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), CRP ve RF seviyesi, sedimasyon içeriği gibi bazı diğer laboratuvar parametreleri kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir artış tespit edildi. ( $p<0,05$ ). Serum omentin seviyesi açısından da hasta (539,4(47,8-2181,8)) ve kontrol (487,6(279,4-784,9)) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ( $p>0,05$ ).

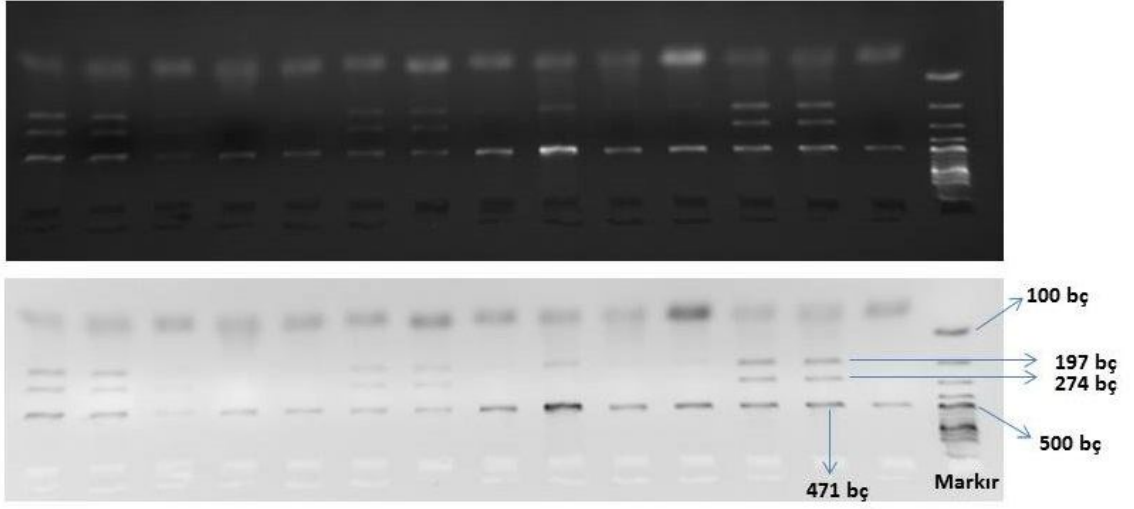
Gruplar arasındaki Omentin Val109Asp genotiplerinin dağılımı Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Hasta grubundaki Asp/Asp, Val/Asp, Val/Val genotipleri sırasıyla 25 (% 55,55), 19 (% 42,22) ve 1 (% 2,23) bulundu.

**Tablo 4.2.** Val109Asp polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı

Genotipler	Toplam (87)	Kontrol (42)	RA (45)	p
Asp/Asp n (%)	47 (54,02)	22 (52,38)	25 (55,55)	
Val/Asp n (%)	39 (44,83)	20 (47,62)	19 (42,22)	0.456
Val/Val n (%)	1 (1,15)	-	1 (2,23)	

Val/Val=GTC/GTC, Val/Asp=GTC/GAC, Asp/Asp=GAC/GAC

Kontrol grubundaki 22 (% 52,38) vakada Asp/Asp genotipi, 20 (% 47,62) vakada Val/Asp genotipi bulunurken Val/Val genotipi bulunamadı. RA grubunda ise 25 (% 55,55) vakada Asp/Asp genotipi, 19 (% 42,22) vakada Val/Asp genotipi ve 1 (% 2,23) vakada Val/Val genotipi bulundu. Genotip sıklığı bakımından hasta ve kontrol grubu vakaları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemedi.



**Resim 4.1:** Val109Asp SNP'ini içeren PZR ürünlerinin AccI enzim kesimi sonrası jeldeki görüntüsü.  
A) Asp/Asp homozygot genotipi, B) Val/Asp heterozygot genotipi, C) Val/Val homozygot genotipi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

RA hastaların yaşam kalitesini azaltan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın en belirgin özeliği geri dönüşümsüz kıkırdak doku harabiyetidir ve henüz tedavisi bulunamamıştır. Bundan dolayı RA'in erken teşhisi, hastalığın tedavisi için hayati öneme sahiptir. Günümüz teknolojisinde kıkırdak harabiyetini gözlemleyebilen girişimsel olmayan bir görüntüleme sistemi geliştirilemediğinden, araştırmacılar erken teşhis için biyokimyasal belirteçlere (markırlara) odaklanmıştır (112 - 115). Yapmış olduğumuz bu çalışmada adipoz doku tarafından salgılanan omentin adipokininin RA'in bir belirteç olup olamayacağı hem genetik hem de protein seviyesinde araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda omentin ile RA hastalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadığından, omentinin RA için uygun bir belirteç olamayacağı kanısına varılmıştır.

RA hastalığının çok sayıda immün hücrenin, immün sistem elemanlarının ve sinoviyal sıvıdaki inflamatuvar ajanların dahil olduğu kompleks bir hastalık olduğu detaylı bir şekilde ortaya konmuştur. RA'in patogenezinde rol alan kemokinler ve sitokinler, RA için tedavi yöntemi geliştirilmesi açısından hedef haline gelmiştir (116, 117). Sitokinlerin bir alt sınıfı olan adipokinler (adipositokinler), başlıca beyaz yağ dokusu tarafından sentezlenmesinin yanı sıra diğer dokular tarafından da sentezlenirler. Adipokinler, immünolojik ve inflamatuvar yolların düzenlenmesi gibi çok sayıda fonksiyonu ifa ederler. Son yıllarda adipokinlerin RA gibi inflamatuvar hastalıkların patogenezinde ki rolü geniş bir biçimde araştırılmaktadır (118, 119).

Leptin, ilk keşfedilen ve en çok çalışılan adipokindir. Bunun yanı sıra leptin vücut ağırlığını düzenlemesinde ve kıkırdak metabolizmasındaki katabolik rolü Bao ve ark. tarafından kanıtlanmıştır (120). Wislowska ve ark (121), RA ile serum leptin seviyesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamasına karşın Targońska-Stepniak ve ark yaptığı çalışmalarda serum leptin seviyesinin RA hastalarında artışının yanında hastalık şiddetiyle orantılı olarak serum leptin seviyesinin arttığını da rapor etmişlerdir. Bu deneysel verilerden leptinin inflamatuvar etkiye sahip olduğu ve RA'in patogenezinde rolü olabileceği sonucuna varılmaktadır (122, 123).

Günümüze kadar 5 adet izoformu tanımlanan adiponektin, vücudumuzdaki çok çeşitli biyolojik işlemlerde rol aldığından hastalıklar için muhtemel bir biomarker olabilir. Adiponektinin işlevlerini araştıran birçok çalışma yapılmasına rağmen



inflamasyondaki muhtemel rolü hala tartışma konusudur. Kardiovasküler hastalıklar, diyabet ve obezite gibi çeşitli hastalıklarla ters ilişkili olduğu bulunmuştur. Buna karşın serum adiponektin seviyesinin RA hastalığının erken dönemlerinde (10 yıldan daha az) önemli miktarda arttığı rapor edilmiştir (123, 124). Buna ilaveten RA hastalık şiddeti ile artmış serum adiponektin seviyesi arasındaki korelasyon bir çok çalışmada ispatlanmıştır (125, 126).

Adipokinler arasında rezistin ve visfatinin oto-immün hastalıklarda ve inflamasyonlarda önemli bir pro-inflamatuvar olarak rol aldığı gösterildiğinden, RA için teröpatik hedef haline gelmiştir (127). 2001 yılında karakterize edilen rezistin, RA’te rol aldığı ispatlanmıştır (128, 129). Bunun yanı sıra rezistinin inflamatuvar etkisi Zhang ve ark. tarafından araştırılmıştır (130). Yaptıkları çalışmada, insan kondrosit hücrelerini rezistin ile muamele ettikten sonra matriks metaloproteinazların (MMP) ifade düzeylerini ölçmüşler ve rezistinin, kemokin ve sitokinler aracılığıyla MMP’lerin ifade düzeyini arttırdığını rapor etmişler. Buna paralel olarak inflamatuvar özelliğe sahip visfatinin de RA’de arttığı rapor edilmiştir (131, 132). Bundan dolayı visfatin de RA için muhtemel bir terapötik hedef haline gelmiştir (133).

Diğer kapsamlı bir çalışma da Rho ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (134). 167 RA hastası ve 97 sağlıklı birey kullanılarak yapılan bu çalışmada serum leptin, resistin, adiponektin ve visfatin seviyelerinin RA’te arttığını buldular. Yukarıda bahsedilen sonuçlardan yola çıkarak bu çalışmada omentinin RA’in etyolojisinde muhtemel rolü araştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda omentinin hem serum seviyesi hem de genotipleri açısından RA ile anlamlı bir ilişki bulunamadı. Yapılan analizlerde omentin serum seviyesi RA’li hastalarda 539,4 (47,8-2181,8) ng/mL iken kontrol grubunda 487,6 (279,4-784,9) ng/mL olarak bulunmuştur. Omentin yakın zamanda bulunan bir adipokin olduğundan karakteristik özellikleri hakkında çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda farklı sonuçlar çıkmasına karşın omentinin anti-inflamatuvar özellik gösterdiği genel olarak kabul edilmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada omentinin p38 ve JNK (Jun N-terminal kinases) yollarını inhibe etmek suretiyle anti-inflamatuvar özellik gösterdiği tespit edilmiştir (109). En son yapılan bir çalışmada da RA hastalarının sinovial dokusundaki omentin seviyesinin osteoartritdekine göre anlamlı derecede düşük olduğu rapor edildi (135). Bu sonuçlara paralel olarak birçok inflamatuvar hastalıkta azalmış omentin serum seviyesi bildirilmiştir. Bizim çalışmamıza konu olan RA hastalığında bir inflamatuvar hastalık

olmasına karşın, omentin seviyesi azalmamıştır. Bunun başlıca sebebi hastalarımızın hali hazırda ilaç kullanıyor olması olabilir. Kullanılan anti-inflamatuvar ilaçlar omentin serum seviyesini değiştirme potansiyeline sahiptir. Benzer şekilde omentin geni Val109Asp polimorfizmi açısından da anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Burada ki en kısıtlayıcı faktör ise çalışma popülasyonunun küçüklüğü olabilir.

Sonuç olarak elde edilen deneysel verilere göre omentin adipokini ile RA hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiyi tespit edilememiştir. Fakat bu araştırma, omentin ile RA arasındaki muhtemel ilişkiyi inceleyen ilk araştırma olması sebebiyle önem arz etmektedir. Çalışmanın en önemli kısıtlayıcı faktörleri, hastaların ilaç kullanıyor olması ve çalışma popülasyonunun küçüklüğüdür. Daha doğru sonuçlar elde edebilmek için çalışma ilaç kullanmayan hastalardan oluşan daha büyük popülasyonlarda tekrarlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Symmons DP. Epidemiology of rheumatoid arthritis: determinants of onset, persistence and outcome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16(5):707-22.
2. Dilşen N. Romatoid Artrit in Büyüköztürk K. Atamer T. Dilmener M. Erzenin F. Kaysı A. Ökten A. İç hastalıkları 2007; 581-7:2709-2724.
3. Ergin S. Romatoid Artrit ve Sjogren Sendromu. Beyazova M, Gokce-Kutsal Y (eds). *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Cilt 2*. Guneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2000; 1549-1576.
4. Yazıcı S, Bulur S, Sözen SB, Çalık Y, Baki AE, Önder E, Özhan H, Yazıcı M, Ataoğlu S. Evaluation of Lipid Parameters in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Konuralp Tıp Dergisi [Konuralp Medical Journal]* 2009; 1(1): 2-6.
5. Murphy G, Nagase H. Reappraising metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: destruction or repair? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4(3):128-35.
6. Mevorach D, Paget SA. Rheumatoid Arthritis. Paget SA, Gibofsky A, Beary JF III (eds) . *Manuel of Rheumatology and Outpatient Orthopedic Disorders*. Lippincott Williams & Wilkins, Fourth Edition, 2000; 192-229.
7. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci* 2006; 11: 529-43.
8. Koniçe M, Eryavuz M. Romatoid Artrit. Tüzün F. Eryavuz M. Akarırmak Ü (eds). *Hareket Sistemi Hastalıkları Nobel Tıp Kitabevi*. İstanbul, 1997;85-98.
9. Sayarlıoğlu M, İzmirli M, Uzun K, Alıcı S, Erkoç R. Rheumatoid arthritis and pulmonary carcinoid tumor. *Eur J Gen Med* 2005; 2(1): 35-38.
10. Akar S, Birlik M, Gurler O, Sari I, Onen F, Manisali M, Tirpan K, Demir T, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in an urban population of Izmir-Turkey. *Clin Exp Rheumatol*. 2004; 22(4): 416-20.002;60(6):465-73.
11. Dilşen N. Romatoid Artrit in Büyüköztürk K. Atamer T. Dilmener M. Erzenin F. Kaysı A. Ökten A. İç hastalıkları 2007;581-7:2709-2724.
12. Schaefferbeke T, Truchetet MÉ, Richez C. When and where does rheumatoid arthritis begin? *Joint Bone Spine* 2012; 79(6): 550-4.
13. Öncel S, Peker Ö, Göğüş F. Romatoid Artritte Etiyopatogenez, Klinik ve Laboratuar Bulgular. Göksoy T (ed). *Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi Yüce reklam/yayım/dağıtım a.ş.* İstanbul, 2002;422-431,436-449.

14. O'Dell J.R.: Romatoid Artrit in L. Goldman, D. Ausiello, S. Ünal Cecil Textbook of medicine Elsevier and Saunders; 2011;341-7:2003-2014.
15. Khan AN, Gregorie CJ, Tomasi TB. Histone deacetylase inhibitors induce TAP, LMP, Tapasin genes and MHC class I antigen presentation by melanoma cells. *Cancer Immunol Immunother* 2008; 57:647-54.
16. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium. *Nature* 1999; 401:921-3.
17. Male D. T-cell receptors and major histocompatibility complex molecules. Roitt I, Brostoff J, Male D, editors. *Immunology*. 6th ed. New York: Mosby; 2001. p. 91-189.
18. Hajeer AH, Dababneh A, Makki RF, Thomson W, Poulton K, Gay MA, Garcia Porrua C, Mathey DL, Ollier WE. Different gene loci within the HLA-DR and TNF regions are independently associated with susceptibility and severity in Spanish rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens* 2000;55:319-325.
19. Kelley WN; Harris ED, Ruddy S, Sledge CB. Text book of rheumatology. Fifth edition. United States of America, WB Saunders Company, 1997;851-951.
20. Hamuryudan V: Romatoid Artrit in İliçin G. Biberoglu K. Süleymanlar G. Ünal S. İç Hastalıkları 2012; 419-3:2497-2505.
21. Bendixen M, Frisch M. Risk factors of rheumatoid arthritis. *Ugeskr Laeger* 2003;165(10):1020-3
22. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005;4(3):130-6.
23. Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004;350:2572-2581.
24. Kumar V, Abbas K, Fausto N, Michell RN. Rheumatoid Arthritis and scleroderma in Robins and Cotran Patologic Basis of Disease by Saunders, an imprint of Elsevier Inc 2010;3121-5.
25. Little CB, Meeker CT, Golub SB, Lawlor KE, Farmer PJ, Smith SM, Fosang AJ. Blocking aggrecanase cleavage in the aggrecan interglobular domain abrogates cartilage erosion and promotes cartilage repair. *J Clin Invest* 2007; 117(6): 1627-36.
26. Knevel R, Tsonaka R, le Cessie S, van der Linden MP, Huizinga TW, van der Heijde DM, Houwing-Duistermaat JJ, van der Helm-van Mil AH. Comparison of

- methodologies for analysing the progression of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2013; 42(3): 182-9.
27. Poole CA. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *J Anat.* 1997; 191 (Pt 1):1-13.
  28. Koshy PJ, Lundy CJ, Rowan AD, Porter S, Edwards DR, Hogan A, Clark IM, Cawston TE. The modulation of matrix metalloproteinase and ADAM gene expression in human chondrocytes by interleukin-1 and oncostatin M: a time-course study using real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum* 2002; 46(4): 961-7.
  29. Doi H, Nishida K, Yorimitsu M, Komiyama T, Kadota Y, Tetsunaga T, Yoshida A, Kubota S, Takigawa M, Ozaki T. Interleukin-4 downregulates the cyclic tensile stress-induced matrix metalloproteinases-13 and cathepsin B expression by rat normal chondrocytes. *Acta Med Okayama* 2008; 62(2): 119-26.
  30. Dudhia J. Aggrecan, aging and assembly in articular cartilage. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(19-20): 2241-56.
  31. Pfeil A, Oelzner P, Bornholdt K, Hansch A, Lehmann G, Renz DM, Wolf G, Bottcher J. Joint damage in rheumatoid arthritis: assessment of a new scoring method. *Arthritis Res Ther* 2013; 15(1): R27.
  32. Fosang AJ, Little CB. Drug insight: aggrecanases as therapeutic targets for osteoarthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; 4(8): 420-7.
  33. You S, Cho CS, Lee I, Hood L, Hwang D, Kim WU. A systems approach to rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2012; 7(12): e51508.
  34. Brocker CN, Vasiliou V, Nebert DW. Evolutionary divergence and functions of the ADAM and ADAMTS gene families. *Hum Genomics.* 2009 Oct;4(1):43-55.
  35. Apte SS. A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motifs: the ADAMTS family. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(6):981-5.
  36. Conde J, Scotece M, López V, Gómez R, Lago F, Pino J, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Adipokines: novel players in rheumatic diseases. *Discov Med* 2013; 15(81): 73-83.
  37. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2548-56.
  38. Gimble JM. Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3(5):705-13.

39. Tilg H, Diehl A.M. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *New England Journal of Medicine N Engl J Med* 2000; 343(20):1467-76.
40. Nedvídková J, Smitka K, Kopský V, Hainer V. Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res* 2005; 54(2):133-40.
41. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372(6505):425-32.
42. McConway MG, Johnson D, Kelly A, Griffin D, Smith J, Wallace AM. Differences in circulating concentrations of total and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 717–723.
43. Sinha MK, Opentova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J. Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest* 1996; 98: 1277–1282.
44. Hekimoğlu A. Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki rolü, *Dicle Tıp Dergisi* 2006; 33(4):259-267.
45. Peelman F, Waelput W, Iserentant H. Leptin: linking adipocyte metabolism with cardiovascular and autoimmune diseases. *Prog Lipid Res* 2004; 43:283-301.
46. Gaja A, Chury Z, Pecen L. Bone marrow and peripheral blood leptin levels in lymphoproliferative diseases--relation to the bone marrow fat and infiltration. *Neoplasma* 2000; 47:307-12.
47. Fajas L, Annicotte J.S, Miard S. Impaired pancreatic growth, beta cell mass, and beta cell function in E2F1 (-/-)mice. *J Clin Invest* 2004; 113:1288-95.
48. Martinez-Carpio P.A, Fiol C, Hurtado I. Relation between leptin and body fat distribution in menopausal status. *J Physiol Biochem* 2003; 59:301-07.
49. Tremblay A, Pelletier C, Doucet E, Imbeault P. Thermogenesis and weight loss in obese individuals. a primary association with organochlorine pollution. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28:936-39.
50. Klaus S. Adipose tissue as a regulator of energy balance. *Curr Drug Targets* 2004; 5:241-50.
51. Scotece M, Conde J, López V, Lago F, Pino J, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Leptin in Joint and Bone Diseases: New Insights. *Curr Med Chem* 2013; 20(27): 3416-25.
52. Wisłowska M, Rok M, Jaszczuk B, Stepień K, Cicha M. Serum leptin in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2007; 27(10): 947-54.

53. Tong KM, Shieh DC, Chen CP, Tzeng CY, Wang SP, Huang KC, Chiu YC, Fong YC, Tang CH. Leptin induces IL-8 expression via leptin receptor, IRS-1, PI3K, Akt cascade and promotion of NF-kappaB/p300 binding in human synovial fibroblasts. *Cell Signal* 2008; 20(8): 1478-88.
54. Muraoka S, Kusunoki N, Takahashi H, Tsuchiya K, Kawai S. Leptin stimulates interleukin-6 production via janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in rheumatoid synovial fibroblasts. *Clin Exp Rheumatol* 2013; 31(4): 589-95.
55. Bao JP, Chen WP, Feng J, Hu PF, Shi ZL, Wu LD. Leptin plays a catabolic role on articular cartilage. *Mol Biol Rep* 2010; 37(7): 3265-72.
56. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221(2): 286-9.
57. Viengchareun S, Zennaro MC, Pascual-Le Tallec L, Lombes M. Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. *FEBS Lett* 2002; 532(3):345-50.
58. Scotece M, Conde J, López V, Lago F, Pino J, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Adiponectin and Leptin: New Targets in Inflammation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2013 Jul 8. doi: 10.1111/bcpt.12109. [Epub ahead of print]
59. Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010; 37(1): 11-32.
60. Looker H.C, Krakoff J, Funahashi T. Adiponectin concentrations are influenced by renal function and diabetes duration in pima indians with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004;89:4010-17.
61. Raji A, Gerhard-Herman M.D, Warren M. Insulin resistance and vascular dysfunction in nondiabetic asian indians. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004;89:3965-72.
62. Kazumi T, Kawaguchi A, Hirano T, Yashino, G. Serum adiponectin is associated with high density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism* 2004; 53 (5):589-593.
63. Garaulet M, Hernández-Morante JJ, de Heredia FP, Tébar FJ. Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutr* 2007; 10(10A): 1145-50.

64. Ebina K, Fukuhara A, Ando W, Hirao M, Koga T, Oshima K, Matsuda M, Maeda K, Nakamura T, Ochi T, Shimomura I, Yoshikawa H, Hashimoto J. Serum adiponectin concentrations correlate with severity of rheumatoid arthritis evaluated by extent of joint destruction. *Clin Rheumatol* 2009; 28(4): 445-51.
65. Senolt L, Pavelka K, Housa D, Haluzik M. Increased adiponectin is negatively linked to the local inflammatory process in patients with rheumatoid arthritis. *Cytokine* 2006; 35(5-6): 247-52.
66. Ozgen M, Koca SS, Dagli N, Balin M, Ustundag B, Isik A. Serum adiponectin and vaspin levels in rheumatoid arthritis. *Arch Med Res* 2010; 41(6): 457-63.
67. Schäffler A, Ehling A, Neumann E, Herfarth H, Tarner I, Schölmerich J, Müller-Ladner U, Gay S. Adipocytokines in synovial fluid. *JAMA* 2003; 290(13): 1709-10.
68. Ebina K, Fukuhara A, Ando W, Hirao M, Koga T, Oshima K, Matsuda M, Maeda K, Nakamura T, Ochi T, Shimomura I, Yoshikawa H, Hashimoto J. Serum adiponectin concentrations correlate with severity of rheumatoid arthritis evaluated by extent of joint destruction. *Clin Rheumatol* 2009; 28(4): 445-51.
69. Toussiot É, Binda D, Gueugnon C, Dumoulin G. Adiponectin in autoimmune diseases. *Curr Med Chem* 2012; 19(32): 5474-80.
70. Neumann E, Frommer KW, Vasile M, Müller-Ladner U. Adipocytokines as driving forces in rheumatoid arthritis and related inflammatory diseases? *Arthritis Rheum* 2011; 63(5): 1159-69.
71. Kitahara K, Kusunoki N, Kakiuchi T, Suguro T, Kawai S. Adiponectin stimulates IL-8 production by rheumatoid synovial fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378(2): 218-23.
72. Tang CH, Chiu YC, Tan TW, Yang RS, Fu WM. Adiponectin enhances IL-6 production in human synovial fibroblast via an AdipoR1 receptor, AMPK, p38, and NF-kappa B pathway. *J Immunol* 2007; 179(8): 5483-92.
73. Chen X, Lu J, Bao J, Guo J, Shi J, Wang Y. Adiponectin: a biomarker for rheumatoid arthritis? *Cytokine Growth Factor Rev* 2013; 24(1): 83-9.
74. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409(6818): 307-12.
75. Stepan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; 13(1):18-23.



76. Stofkova A. Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity. *Endocr Regul* 2010; 44(1): 25-36.
77. Fadda SM, Gamal SM, Elsaid NY, Mohy AM. Resistin in inflammatory and degenerative rheumatologic diseases : Relationship between resistin and rheumatoid arthritis disease progression. *Z Rheumatol* 2013; 72(6): 594-600.
78. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309(2): 286-90.
79. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005; 174(9): 5789-95.
80. Senolt L, Housa D, Vernerová Z, Jirásek T, Svobodová R, Veigl D, Anderlová K, Müller-Ladner U, Pavelka K, Haluzík M. Resistin in rheumatoid arthritis synovial tissue, synovial fluid and serum. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(4): 458-63.
81. Gheita TA, El-Gazzar II, El Shazly RI, El-Din AM, Abdel-Rasheed E, Bassyouni RH. Gheita TA, El-Gazzar II, El Shazly RI, El-Din AM, Abdel-Rasheed E, Bassyouni RH. Elevated serum resistin in juvenile idiopathic arthritis: relation to categories and disease activity. *J Clin Immunol* 2013; 33(1): 297-301.
82. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994; 14(2): 1431-7.
83. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M. Visfatin, a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005; 307:426–430.
84. Stastny J, Bienertova-Vasku J, Vasku A. Visfatin and its role in obesity development. *Diabetes Metab Syndr* 2012; 6(2): 120-4.
85. Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit* 2006; 12(6):RA112-9.
86. Arner P. Insulin resistance in type 2 diabetes – role of the adipokines. *Curr Mol Med* 2005; 5:333–339.
87. Durak S. Çocuk Çağı Obezitesinde Plazma Visfatin Düzeyinin İnsülin Direnci ile İlişkisi. 2009, Harran Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 85 sayfa, Şanlıurfa, (Yard. Doç. Dr. Ali ATAŞ).
88. Jia SH, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, Rotstein O.D. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest* 2004; 113:1318 -1327.

89. Bao JP, Chen WP, Wu LD. Visfatin: a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis. *J Int Med Res* 2009; 37(6): 1655-61.
90. Rho YH, Solus J, Sokka T, Oeser A, Chung CP, Gebretsadik T, Shintani A, Pincus T, Stein CM. Adipocytokines are associated with radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60(7): 1906-14.
91. El-Hini SH, Mohamed FI, Hassan AA, Ali F, Mahmoud A, Ibraheem HM. Visfatin and adiponectin as novel markers for evaluation of metabolic disturbance in recently diagnosed rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int* 2013; 33(9): 2283-9.
92. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(9): 1198-201.
93. Senolt L, Kryštůfková O, Hulejová H, Kuklová M, Filková M, Cerezo LA, Běláček J, Haluzík M, Forejtová S, Gay S, Pavelka K, Vencovský J. The level of serum visfatin (PBEF) is associated with total number of B cells in patients with rheumatoid arthritis and decreases following B cell depletion therapy. *Cytokine* 2011; 55(1): 116-21.
94. Gosset M, Berenbaum F, Salvat C, Sautet A, Pigenet A, Tahiri K, Jacques C. Crucial role of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in matrix degradation and prostaglandin E2 synthesis in chondrocytes: possible influence on osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(5): 1399-409.
95. Yang R.Z, Shuldiner A.R, Gong D.W. Cloning of omentin, a new adipokine from human omental fat tissue. Unpublished. NCBI, nucleotide database, 2004; accession number: AY549722.
96. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1732(1-3): 96-102.
97. Kralisch S, Klein J, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. (2005) Therapeutic perspectives of adipocytokines. *Expert Opin Pharmacother* 6:863–872
98. Tan B.K, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski K.C, O'Hare P, Lehnert H. Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome: ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose. *Diabetes* 2008; 57: 801-808.

99. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(6): E1253-61.
100. St Jean P, Husueh W.C, Mitchell B, Ehm M, Wanger M, Burns D, Shuldiner A.R. Association between diabetes, obesity, glucose and insulin levels in the Old Older Amish and SNPs on 1q21-23. *Am J Hum Genet* 67:332, 2000.
101. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. The role of adipokines in connective tissue diseases. *Eur J Nutr* 2012; 51(5): 513-28.
102. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes* 2007; 56(6): 1655-61.
103. Moreno-Navarrete JM, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, Frühbeck G, Fernández-Real JM. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab (Lond)* 2010; 7:27.
104. Zhong X, Zhang HY, Tan H, Zhou Y, Liu FL, Chen FQ, Shang DY. Association of serum omentin-1 levels with coronary artery disease. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32(7): 873-8.
105. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, Murohara T. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis* 2011; 219(2): 811-4.
106. Ismail SA, Mohamed SA. Serum levels of visfatin and omentin-1 in patients with psoriasis and their relation to disease severity. *Br J Dermatol* 2012; 167(2): 436-9.
107. Jialal I, Devaraj S, Kaur H, Adams-Huet B, Bremer AA. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(3): E514-7.
108. Senolt L, Polanská M, Filková M, Cerezo LA, Pavelka K, Gay S, Haluzík M, Vencovsky J. Vaspin and omentin: new adipokines differentially regulated at the site of inflammation in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(7): 1410-1.
109. Zhong X, Li X, Liu F, Tan H, Shang D. Omentin inhibits TNF- $\alpha$ -induced expression of adhesion molecules in endothelial cells via ERK/NF- $\kappa$ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425(2): 401-6.

110. Kazama K, Usui T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- $\alpha$ -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2012; 686(1-3): 116-23.
111. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408(2): 339-43.
112. Pfeil A, Oelzner P, Bornholdt K, Hansch A, Lehmann G, Renz DM, Wolf G, Bottcher J. Joint damage in rheumatoid arthritis: assessment of a new scoring method. *Arthritis Res Ther* 2013; 15(1): R27.
113. Nikolaus S, Bode C, Taal E, van de Laar MA. Fatigue and factors related to fatigue in rheumatoid arthritis: A systematic review. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Jan 17. doi: 10.1002/acr.21949. [Epub ahead of print]
114. Yaykasli KO, Oohashi T, Hirohata S, Hatipoglu OF, Inagawa K, Demircan K, Ninomiya Y. ADAMTS9 activation by interleukin 1 beta via NFATc1 in OUMS-27 chondrosarcoma cells and in human chondrocytes. *Mol Cell Biochem*. 2009; 323(1-2): 69-79.
115. Sumer EU, Schaller S, Sondergaard BC, Tankó LB, Qvist P. Application of biomarkers in the clinical development of new drugs for chondroprotection in destructive joint diseases: a review. *Biomarkers*. 2006; 11(6): 485-506.
116. Vergunst CE, van de Sande MG, Lebre MC, Tak PP. The role of chemokines in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Scand J Rheumatol*. 2005; 34(6): 415-25.
117. Boissier MC, Semerano L, Challal S, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G. Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. *J Autoimmun*. 2012; 39(3): 222-8.
118. Gabay O, Berenbaum F. Adipokines in Arthritis: New Kids on the Block. *Current Rheumatology Reviews* 2009; 5: 226-232.
119. Canoruc N, Kale E, Turhanoglu AD, Özmen S, Ogun C, Kaplan A. Plasma resistin and leptin in overweight and lean patients with rheumatoid arthritis. *Turk J Med Sci* 2009; 39(3): 447-451.
120. Bao JP, Chen WP, Feng J, Hu PF, Shi ZL, Wu LD. Leptin plays a catabolic role on articular cartilage. *Mol Biol Rep* 2010; 37(7): 3265-72.
121. Wisłowska M, Rok M, Jaszczyk B, Stepień K, Cicha M. Serum leptin in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2007; 27(10): 947-54.

122. Targońska-Stepniak B, Majdan M, Dryglewska M. Leptin serum levels in rheumatoid arthritis patients: relation to disease duration and activity. *Rheumatol Int* 2008; 28(6): 585-91.
123. Targońska-Stepniak B, Dryglewska M, Majdan M. Adiponectin and leptin serum concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2010; 30(6): 731-7.
124. Chen X, Lu J, Bao J, Guo J, Shi J, Wang Y. Adiponectin: A biomarker for rheumatoid arthritis? *Cytokine Growth Factor Rev* 2013; 24(1): 83-9.
125. Ebina K, Fukuhara A, Ando W, Hirao M, Koga T, Oshima K, Matsuda M, Maeda K, Nakamura T, Ochi T, Shimomura I, Yoshikawa H, Hashimoto J. Serum adiponectin concentrations correlate with severity of rheumatoid arthritis evaluated by extent of joint destruction. *Clin Rheumatol* 2009; 28(4): 445-51.
126. Ozgen M, Koca SS, Dagli N, Balin M, Ustundag B, Isik A. Serum adiponectin and vaspin levels in rheumatoid arthritis. *Arch Med Res* 2010; 41(6): 457-63.
127. Stofkova A. Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity. *Endocr Regul* 2010; 44(1): 25-36.
128. Senolt L, Housa D, Vernerová Z, Jirásek T, Svobodová R, Veigl D, Anderlová K, Müller-Ladner U, Pavelka K, Haluzík M. Resistin in rheumatoid arthritis synovial tissue, synovial fluid and serum. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(4): 458-63.
129. Fadda SM, Gamal SM, Elsaid NY, Mohy AM. Resistin in inflammatory and degenerative rheumatologic diseases: Relationship between resistin and rheumatoid arthritis disease progression. *Z Rheumatol* 2013 Mar 9. [Epub ahead of print]
130. Zhang Z, Xing X, Hensley G, Chang LW, Liao W, Abu-Amer Y, Sandell LJ. Resistin induces expression of proinflammatory cytokines and chemokines in human articular chondrocytes via transcription and messenger RNA stabilization. *Arthritis Rheum.* 2010; 62(7): 1993-2003.
131. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65(9): 1198-201.
132. Gosset M, Berenbaum F, Salvat C, Sautet A, Pigenet A, Tahiri K, Jacques C. Crucial role of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in matrix degradation and prostaglandin E2 synthesis in chondrocytes: possible influence on osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(5):1399-409.

133. Bao JP, Chen WP, Wu LD. Visfatin: a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis. *J Int Med Res* 2009; 37(6): 1655-61.
134. Rho YH, Solus J, Sokka T, Oeser A, Chung CP, Gebretsadik T, Shintani A, Pincus T, Stein CM. Adipocytokines are associated with radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60(7): 1906-14.
135. Senolt L, Polanská M, Filková M, Cerezo LA, Pavelka K, Gay S, Haluzík M, Vencovsky J. Vaspin and omentin: new adipokines differentially regulated at the site of inflammation in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(7): 1410-1411.

## ÖZGEÇMİŞ

Emine Yaykaşlı 1978 yılında Doğanşehir / Malatya’da doğdu. 1995 yılında Serik Lisesi’nden, 2004 yılında ise Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden mezun oldu. Aynı yıl girdiği yüksek lisans sınavını başarıyla geçerek 2006 yılında Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimini tamamladı. Halen Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrencisi olarak eğitim hayatına devam etmektedir.