

Diz Osteoartrit Hastalarının Evrelerine Göre Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Aktivitesi

¹Ahu Soyocak, ¹Hülyam Kurt, ²Merih Özgen, ¹Didem Turgut Coşan, ¹İrfan Değirmenci, ³Ertuğrul Çolak, ¹Hasan Veysi Güneş

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı

*email: asoyocak@gmail.com

ÖZET: Bu çalışmada, osteoartrit (OA) gelişiminde terapötik hedef olabileceği düşünülen transkripsiyon faktörlerinden NF-κB'nin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya primer diz OA tanısı alan 100 hasta ve 50 sağlıklı birey dahil edildi. Periferik kandan mononükleer hücre (PKMH) izolasyonu ficol yoğunluk gradyanı yöntemiyle gerçekleştirildi. NF-κB aktivasyonu hücrelerden hazırlanan nükleer ekstraktlarda ELISA metodu ile değerlendirildi. Hasta ile kontrol grubu arasında NF-κB aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre bir artış olduğu ($p=0.405$), cinsiyete göre de artış gösterdiği ($p=0.260$; $p=0.610$) ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Bununla birlikte Kellgren Lawrence (K-L) evreleme sistemine göre sınıflandırdığımız OA hastalarında NF-κB aktivitesi yönünden evreler arasında istatistiksel bir fark olmadığı ($p=0.229$) bulundu. Ancak NF-κB aktivite değeri kontrol ve diğer evrelerle karşılaştırıldığında erken evrede (evre 1) daha yüksek olduğu gözlemlendi. İnflamatuar sürecin OA patogenezinin katkısı olabileceği düşüncesinden yola çıkarak, evrelerine göre sınıflandırdığımız OA hastalarında, NF-κB aktivite değerinin kontrol ve diğer evrelerle karşılaştırıldığında bir fark göstermediği bulundu.

ANAHTAR KELİMELEER: Osteoartrit, NF-κB

NUCLEAR FACTOR KAPPA B (NF-κB) ACTIVITY ACCORDING TO GRADE OF KNEE OSTEOARTHRITIS PATIENTS

ABSTRACT: We aimed to determine in this study the role of the transcription factor NF-κB which were thought to be a therapeutic target in osteoarthritis (OA) development. In this study, blood samples were collected from 100 patients with a diagnosis of OA and 50 healthy subjects. In these samples peripheral mononuclear blood cells (PBMCs) were extracted by standard Ficoll density-gradient centrifugation. NF-κB activation was quantified by way of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the NF-κB kit according to the manufacturer's instructions. When the NF-κB activity is considered between patients and the control group, there is an increase in patients compared to the control group ($p=0.405$). At the same time, it has been determined that increased by gender ($p=0.260$; $p=0.610$). But these increases were not statistically significant. When we classify OA patients according to Kellgren-Lawrence (K-L) grading system, we were not found statistically significant difference between NF-κB activity ($p=0.229$). But the value of NF-κB activity was significantly higher at early stage (grade 1) compared to control and other stages. We are based on, inflammatory processes may contribute to the pathogenesis of OA patients, which were classified according to grade, but were not found difference between NF-κB activities in the patients groups.

KEYWORDS: Osteoarthritis, NF-κB

1. Giriş

Osteoartrit kıkırdak, kemik ve sinoviyal dokularda çeşitli travmatik, biyomekanik,

gelişimsel, metabolik ve genetik faktörlerin etkisiyle meydana gelen kıkırdak yapımı ve yıkımı arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkan, biyokimyasal ve morfolojik

değişiklikler ile karakterize bir hastalıktır (1). Noninflamatuvar bir hastalık olarak bilinmesine rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalarda, sinovitin ve düşük derece inflamasyonun OA patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (2-4). Hücre farklılaşması, canlılığı ve aktivasyonu için gerekli olan nükleer faktör kappa B (NF-κB) inflamatuvar yoldaki en önemli transkripsiyon faktörlerinden birisidir (5). NF-κB, ilk olarak matür B lenfositlerinin çekirdeklerinde, immünooglobulin kappa hafif zincir enhancer bölgesinde 10 baz çiftlik DNA elemanına bağlanan bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır (6). NF-κB, Rel domaini içeren proteinlerden oluşan bir protein ailesi olarak memeli hücrelerinde beş ayrı üyesi bulunmaktadır. Bunlar; NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2 (p52/p100), RelA (p65), RelB ve c-Rel (Rel)'dir. Bu proteinler homodimerik ve heterodimerik halde sitoplazmada bulunur (7-9). NF-κB normal fizyolojik süreç için önemli bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB aktivitesinde ortaya çıkan düzensizlikler romatoid artrit, osteoartrit, astım, multiple skleroz, inflamatuvar bağırsak hastalığı, tip II diyabet ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (7, 8, 10, 11). NF-κB, eklem kıkırdağında matriks metalloproteinaz (MMP) gen ekspresyonu oluşmasında ve çok sayıda pro-inflamatuvar aracının salınmasında rol alır (5). NF-κB, inflamatuvar sitokinlerle birlikte çeşitli hücre dışı matriks yıkım proteinlerinin ekspresyonlarını artırır (12). NF-κB'nin OA'lı hasta kondrositlerinde, anormal gen ürünlerinin uyarılması ve normal kondrosit gen ürünleri üretiminin baskılanmasında etkili olduğu ileri sürülmektedir (12). NF-κB transkripsiyon faktörü pro-inflamatuvar sitokinler, aşırı mekanik stres ve hücre dışı matriks yıkım ürünlerini içeren stres ilişkili uyarılarla aktive olabilir. Aktif NF-κB sitokinlerin, kemokinlerin, adhezyon moleküllerinin, inflamatuvar araçların ve çeşitli matriks yıkım enzimlerinin ekspresyonunu düzenler. NF-κB uyarı yolağı sadece kondrositlerin stresle ilişkili pro-inflamatuvar yanıtında merkezi bir rol oynamaz, aynı zamanda kondrositlerin farklılaşmasının kontrolünde de görev yapar (8). NF-κB; tümör-nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin-1β (IL-1β), lipopolisakkarit ve serbest oksijen radikallerini içeren birçok farklı uyarı tarafından aktive edilir. Hücreler TNF-α veya IL-1β'ya maruz kaldıklarında

κB kinaz fosforlanır, bu da NF-κB'nin serbestleşip nükleusa girerek gen ekspresyonunu aktive etmesine neden olmaktadır (5, 13). OA'nın erken dönemde saptanması, hastalığın seyrinin ve tedaviye cevabının izlenmesi için önemlidir. Bu nedenle hastalığın erken dönemlerinde eklemlerdeki değişimleri nicel, güvenilir ve duyarlı biçimde saptayabilecek yeni terapötik hedeflere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, OA mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlanması ve birçok hastalık için potansiyel terapötik hedef olarak tanımlanan transkripsiyon faktörleri NF-κB'nin OA patofizyolojisindeki rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntemler

Çalışma grubu

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 08.02.2011 tarih ve 36 sayılı kurul onayı ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Polikliniğine diz ağrısı şikayeti ile başvuran 100 hasta (84 kadın, 16 erkek) ve 50 sağlıklı (42 kadın, 8 erkek) birey çalışmaya dahil edildi. Amerikan Romatoloji Derneği (ARD) kriterlerine (14) göre primer diz OA tanısı alan hastaların diz OA evrelemesi Kellgren Lawrence (K-L) osteoartrit indeksine (15) göre yapıldı.

Periferik kandan mononükleer hücre (PKMH) izolasyonu

Çalışma grubu bireylerinden EDTA'lı tüplere 8 ml venöz kan alındı. Alınan kan fosfat tamponlu tuz (phosphate buffer saline, PBS) (L1815 Biochrom, Berlin, Almanya) ile 1:1 oranında seyreltilti. Bu seyrelti içinde fikol (Biocoll Separation Solution L6113 Biochrom, Berlin, Almanya) bulunan steril bir tüpe pastör pipeti ile yavaş yavaş eklendi. Daha sonra santrifüj edilerek hücreler toplandı. Toplanan hücreler PBS ile yıkandı ve -80°C de saklandı (16).

Nükleer ekstrakt hazırlanması

Çalışma grubundan elde edilen mononükleer hücrelerden, NF-κB aktivitesini belirlemek üzere, nükleer ekstrakt kiti (Active Motif, California, USA) kullanılarak hücrelerin çekirdek içeriği elde edildi. Kit protokolüne

uygun olarak elde edilen bu nükleer ekstrakt yeni bir vialle aktarılarak kullanılabilece kadar -80 °C'de saklandı.

NF-κB aktivitesinin belirlenmesi

Hazırlanan nükleer ekstraktlarda TransAM™ NF-κB kiti (Active Motif, California, USA) kullanılarak, kit protokolüne göre NF-κB aktivitesi belirlendi. Kit içerisinde bulunan oligonükleotid kaplı 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna kit içeriğinde bulunan bağlama tamponundan 30 µl eklendi. Kör olarak kullanılacak kuyucuklara nükleer ekstraktın içerisinde bulunduğu lizis tamponundan 20 µl ve diğer kuyucuklara da ölçümü yapılacak örneklerden 20 µl ilave edildi. Bu işlemlerden sonra kit protokolüne uygun olarak plaka kuyucuklarının renginin maviden koyu maviye dönüşmesi gözlemlendi ve sonrasında yine kit içeriğinde bulunan durdurma solüsyonundan 100 µl ilave edilerek mavi rengin sarıya dönüşmesi sağlandı. Plaka 5 dk içinde 450 nm de ELISA (Labsystems Multiskan EX, Vanta, Finland) cihazında ölçülerek optik dansite (OD) değerleri belirlendi.

İstatistiksel analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile

değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları grup sayısına bağlı olarak Mann-Whitney U testi ya da Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Kategorik değişkenlerin gruplara göre karşılaştırılmasında ki-kare analizlerinden yararlanıldı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Analizler IBM SPSS Statistics 21 ile MedCalc 13.3.3.0 paket programlarında yapıldı. p<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

3. Bulgular

Çalışmamızda transkripsiyon faktörü NF-κB aktivitesinin osteoartrit sürecindeki etkisi araştırıldı. Çalışmaya alınan bireylerin evrelere göre demografik özelliklerinin dağılımları Tablo 1'de özetlendi. OA hasta ve kontrol grubunda NF-κB aktivitesi incelendiğinde, kontrol grubuna göre bir artış olduğu (p=0.405) (Tablo 2), cinsiyete göre de artış gösterdiği (p=0.260; p=0.610) (Tablo 3) ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. NF-κB aktivitesinin evrelere göre incelendiğinde, osteoartrit evre 1 hasta grubunda en fazla olduğu gözlemlenirken, tüm evreler arasında istatistiksel bir fark olmadığı (p=0.229) bulundu (Tablo 4).

Tablo 1
Çalışmaya alınan bireylerin evrelere göre demografik özellikleri

Gruplar	Evreler	Yaş (yıl) Ort±SS	VKİ (kg/m ²) Ort±SS	
Kontrol Grubu	Evre 0	Kadın (n=42)	35±12	
	n=50	Erkek (n=8)	38±12	
	Evre 1	Kadın (n=5)	47±5	
	n=7	Erkek (n=2)	56±20	
Hasta Grubu	Evre 2	Kadın (n=26)	55±10	
	n=32	Erkek (n=6)	58±14	
	Evre 3	Kadın (n=31)	60±8	
	n=34	Erkek (n=3)	67±14	
	Evre 4	Kadın (n=22)	67±8	
	n=27	Erkek (n=5)	70±9	
	p değeri		0.001	0.001

Tablo 2*Kontrol ve hasta grubunda NF-κB aktivitesi*

Gruplar	NF-κB	p değeri
Kontrol Grubu (n=50)	Ort±SS 0.356±0.033	0.405
Hasta Grubu (n=100)	Ort±SS 0.368±0.05	

Tablo 3*Cinsiyete göre kontrol ve hasta grubunda NF-κB aktivitesi*

Gruplar	NF-κB		
		Kadın	Erkek
Kontrol Grubu (n=50)	Kadın (n=42)	Ort±SS 0.354±0.034	0.366±0.026
	Erkek (n=8)		
Hasta Grubu (n=100)	Kadın (n=84)	Ort±SS 0.367±0.05	0.368±0.053
	Erkek (n=16)		
	p değeri	0.260	0.610

Tablo 4*Evrelere göre kontrol ve hasta grubunda NF-κB aktivitesi*

Gruplar	Evreler	NF-κB	p değeri
Kontrol Grubu	Evre 0 (n=50)	Ort±SS 0.356±0.033	0.229
	Evre 1 (n=7)	Ort±SS 0.381±0.028	
	Evre 2 (n=32)	Ort±SS 0.355±0.041	
Hasta Grubu	Evre 3 (n=34)	Ort±SS 0.373±0.055	
	Evre 4 (n=27)	Ort±SS 0.371±0.057	

4. Tartışma

Osteoartrit (OA) yaşla birlikte sıklığı artan, ağrı ve sakatlıklara neden olarak bireyin yaşam kalitesini önemli ölçüde bozabilen dejeneratif bir eklem hastalığıdır (17). OA temel olarak kıkırdak yıkımı ve subkondral kemikteki değişikliklerle karakterize olmakla birlikte tüm eklem ve eklem çevresi dokuların etkilendiği bir organ hastalığı olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle OA sadece kıkırdak metabolizmasında yer alan enzimlerde meydana gelen değişikliklerle açıklanamamaktadır (18). OA noninflamatuar bir hastalık olarak bilinmesine rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalarda, sinovitin ve düşük derece inflamasyonun OA patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (2-4). İnflamatuar süreç eklem dokusunun hasarında temel bir role sahiptir (10). Yapılan

in vitro ve in vivo çalışmalarda inflamatuvar süreçte önemli bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB sinyal yolağının OA patogeneziye katkısı gösterilmiştir (5, 10). İnflamatuar yanıtı düzenleyen mekanizmalarının tam olarak anlaşılması ile hastalığın erken teşhisi hatta eklemdeki kaybolan homeostazının yeniden yapılanması ve belki tamir mekanizmasının gelişmesi mümkün olabilecektir. Bu nedenlerle çalışmamızda OA hastalarının periferik mononükleer kan hücrelerinde, OA gelişiminde önemli olabileceğini düşündüğümüz NF-κB aktivitesini araştırdık. Böylece hem OA mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlamak hem de osteoartrit için yeni bir terapötik hedef olup olamayacağını ortaya koymayı planladık.

NF-κB'nin, eklem kıkırdağında matriks metalloproteinaz (MMP) gen ekspresyonu oluşmasında ve çok sayıda pro-inflamatuar aracının salınmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Bunlar; tümör-nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin-1β (IL-1β), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), nitrik oksit indükleyici (iNOS), siklooksijenaz (COX)-2, c-fosfolipaz (c-PLA2), intersellüler adhezyon molekülü (ICAM)-1, vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM)-1 ve E-selektin gibi hücre adhezyon molekülleri, makrofaj inflammatuar protein-1α (MIP-1α) ve monosit kemoatraktan protein-3 (MCP-3) gibi kemokinlerdir (5, 10, 19). NF-κB aktivasyonunun sinoviyal örtü hücrelerinde apoptozu engelleyerek aşırı hücre çoğalmasına yani hiperplaziye neden olabileceği düşünülmektedir (20).

NF-κB'nin romatoid ve osteoartrit sinovisinde bol miktarda bulunduğu ve osteoartrite göre romatoid artritte daha fazla olduğu gösterilmiştir (10, 21). Yapılan bir çalışmada 13 romatoid artrit (RA) hastası ve 4 sağlıklı bireyin sinoviyal dokusunda immünohistokimyasal olarak NF-κB proteinleri p50 ve p65'in varlığı incelenmiştir. RA sinoviyumunda NF-κB proteinleri p50 ve p65'in makrofajlarda, sinoviyal örtü hücrelerinde ve vasküler endotelde bol miktarda bulunduğu ve NF-κB'nin romatoid artrit için patolojik olabileceğini bildirmiştir (21). Diğer bir çalışmada NF-κB'nin OA'lı hasta kondrositlerinde, anormal gen ürünlerinin uyarılması ve normal kondrosit gen ürünleri üretimini baskılanmasında etkili olduğu ileri sürülmüştür (12). NF-κB, inflammatuar sitokinlerle birlikte çeşitli hücre dışı matriks yıkım proteinlerinin ekspresyonlarını artırdığı gösterilmiştir (12). OA ve RA hastalarından elde edilen fibroblast-benzeri sinoviyosit (FLS) hücrelerinde NF-κB'nin aktifleşmesinde görevli İκB (IKK)'nin varlığı gösterilmiştir (22).

İnflamatuar artrit hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, NF-κB'nin artrit gelişimi ve ilerlemesinde aktif bir rol oynayabileceği desteklenmektedir (11, 23-25). Murin tip II kollejen indüklü hayvan modelinde yapılan çalışmada NF-κB

ekspresyonunun kollojenaz-3 (MMP13) ve stromelysin-1 (MMP3) ile korele olduğu gösterilmiştir. Böylece MMP gen ekspresyonu ve klinik artrit başlangıcından önce NF-κB ekspresyonunun aktive olduğu önerilmiştir (24). NF-κB ekspresyonu sıçan adjuvan indüklü artrit modelinde incelenmiş ve aktif NF-κB p65 ekspresyonunun iltihaplı sinoviyumda sinoviyal astar tabaka ve kan damarları çevresinde olduğu gösterilmiştir (25).

Tüm bu araştırmalar NF-κB'nin artrit için patolojik olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte yapılan literatür araştırmasında OA'lı hastaların mononükleer hücrelerinde NF-κB gen ekspresyonlarının incelendiği ve evrelere göre aktivasyonun incelendiği bir araştırmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda OA'lı hastalardan elde edilen mononükleer hücrelerde NF-κB aktivitesinin istatistiksel olarak önemli olmasa da arttığını ve Kellgren Lawrence (K-L) evreleme sistemine göre sınıflandırdığımız OA hastalarında NF-κB aktivitesi yönünden evreler arasında istatistiksel bir fark olmadığı bulundu. Ancak NF-κB aktivite değeri kontrol ve diğer evrelerle karşılaştırıldığında erken evrede (evre 1) daha yüksek olduğu ve bu artışın hasta sayısı artırıldığında anlamlı olabileceği gözlemlendi.

5. Sonuç

OA gün geçtikçe görülme sıklığı artan önemli bir sağlık sorunudur. Yavaş ilerleyen bir hastalık olduğundan erken teşhisi oldukça güç olmaktadır. OA'nın erken dönemde saptanması hastalığın seyri ve tedaviye cevabının izlenmesi için önemlidir. Bu nedenle hastalığın erken dönemlerinde görülen değişimleri saptayabilecek yeni terapötik hedeflere ihtiyaç vardır. OA gelişimini düzenleyen farklı sinyal yollarının hastalıkla ilişkilerinin incelenmesi, hastalığın patogenezi ve ilerlemesinin engellenmesinde önemlidir.

Destekleyen Kurum

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon tarafından desteklenmiştir (Proje No: 201111027).

KAYNAKLAR

1. Sharma, L., Kapoor, D., and Issa, S. (2006). Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Current opinion in rheumatology* 18:147-156.
2. Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J., and Abramson, S.B. (2001). Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis & Rheumatism* 44:1237-1247.
3. Saxne, T., Lindell, M., Mansson, B., Petersson, I., and Heinegard, D. (2003). Inflammation is a feature of the disease process in early knee joint osteoarthritis. *Rheumatology* 42:903-905.
4. Sokolove, J., and Lopus, C.M. (2013). Role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis: latest findings and interpretations. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease* 5:77-94.
5. Harris, E.D., Budd, R.C., Firestein, G.S., Genovese, M.C., Segent, J.S., Ruddy, S., and Sledge, C.B. (2006). Romatizmal Hastalıklarda Sinyal Transdüksiyonu. In *Kelley Romatoloji. M. Bilgilişoy Filiz, and E. Gilgi, editors. İstanbul: Güneş Tıp Kitapevi.* 295-300.
6. Sen, R., and Baltimore, D. (1986). Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell* 47:921-928.
7. Chen, F., Castranova, V., Shi, X., and Demers, L.M. (1999). New insights into the role of nuclear factor-κB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clinical chemistry* 45:7-17.
8. Marcu, K.B., Otero, M., Olivotto, E., Borzi, R.M., and Goldring, M.B. (2010). NF-κB signaling: multiple angles to target OA. *Current drug targets* 11:599.
9. Perkins, N.D. (2007). Integrating cell-signalling pathways with NF-κB and IKK function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8:49-62.
10. Roman-Blas, J., and Jimenez, S. (2006). NF-κB as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthritis and cartilage* 14:839-848.
11. Tak, P.P., and Firestein, G.S. (2001). NF-κB: a key role in inflammatory diseases. *Journal of Clinical Investigation* 107:7-11.
12. Roach, H.I. (2008). Potential directions for drug development for osteoarthritis. *Expert opinion on drug discovery* 3:475-486.
13. Baldwin Jr, A.S. (1996). The NF-κB and IκB proteins: new discoveries and insights. *Annual review of immunology* 14:649-681.
14. Altman, R., Asch, E., Bloch, D., Bole, G., Borenstein, D., Brandt, K., Christy, W., Cooke, T., Greenwald, R., and Hochberg, M. (1986). Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis & Rheumatism* 29:1039-1049.
15. Kellgren, J., and Lawrence, J. (1957). Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 16:494-502.
16. Soyocak, A. (2014). Osteoartritli hastalarda jun-n-terminal kinaz (JNK), nükleer faktör kappa b (NF-KB), mirna-146a ve mirna-155 ilişkisinin araştırılması. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. 109 sayfa.
17. Tuncer, T., and Gilgil, E. (2007). Osteoartrit epidemiyolojisi ve risk faktörleri. In *Tanıdan Tedaviye Osteoartrit.* M. Saridoğan, editor. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 9-20.
18. Van der Kraan, P.M., and van den Berg, W.B. (2000). Anabolic and destructive mediators in osteoarthritis. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 3:205-211.
19. Liacini, A., Sylvester, J., Li, W.Q., and Zafarullah, M. (2002). Inhibition of interleukin-1-stimulated MAP kinases, activating protein-1 (AP-1) and nuclear factor kappa B (NF-κB) transcription factors down-regulates matrix metalloproteinase gene expression in articular chondrocytes. *Matrix Biology* 21:251-262.
20. Harris, E.D., Budd, R.C., Firestein, G.S., Genovese, M.C., Segent, J.S., Ruddy, S., and Sledge, C.B. (2006). Romatoid Artritte Yeni Gelişen Tedaviler. In *Kelley Romatoloji. T. Tuncer, editor. İstanbul: Güneş Tıp Kitapevi.* 951-960.
21. Handel, M.L., Mcmorrow, L.B., and Gravallesse, E.M. (1995). Nuclear factor-κB in rheumatoid synovium. Localization of P50 and P65. *Arthritis & Rheumatism* 38:1762-1770.
22. Aupperle, K.R., Yamanishi, Y., Bennett, B.L., Mercurio, F., Boyle, D.L., and Firestein, G.S. (2001). Expression and regulation of inducible IκB kinase (IKK-i) in human fibroblast-like synoviocytes. *Cellular immunology* 214:54-59.
23. Mor, A., Abramson, S.B., and Pillinger, M.H. (2005). The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. *Clinical Immunology* 115:118-128.
24. Han, Z., Boyle, D., Manning, A., and Firestein, G. (1998). AP-1 and NF-κB regulation in rheumatoid arthritis and murine collagen-induced arthritis. *Autoimmunity* 28:197-208.
25. Tsao, P.W., Suzuki, T., Totsuka, R., Murata, T., Takagi, T., Ohmachi, Y., Fujimura, H., and Takata, I. (1997). The effect of dexamethasone on the expression of activated NF-κB in adjuvant arthritis. *Clinical immunology and immunopathology* 83:173-178.