



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAHRAMANMARAŞ'TA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ
HASTALARINDA R202Q/R202Q, M694V/M694V,
R202Q/M694V MUTASYONLARININ NEDEN
OLDUĞU KLİNİK BELİRTİLERİ ARAŞTIRMAK**

GÜLŞAH İŞLER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2017

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTCÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ'TA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ
HASTALARINDA R202Q/R202Q, M694V/M694V,
R202Q/M694V MUTASYONLARININ NEDEN
OLDUĞU KLİNİK BELİRTİLERİ ARAŞTIRMAK

GÜLŞAH İŞLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Metin KILINÇ

Jüri Üyesi
Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN

Jüri Üyesi
Yrd. Doç. Dr. Recep SARAYMEN

KAHRAMANMARAŞ 2017

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Gülşah İŞLER tarafından hazırlanan “Kahramanmaraş'ta Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında R202Q/R202Q, M694V/M694V, R202Q/M694V Mutasyonlarının Neden Olduğu Klinik Belirtileri Araştırmak” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27/ 01/ 2017 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin KILINÇ (DANIŞMAN)

Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ

Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN

Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Recep SARAYMEN (ÜYE)

Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, ERÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

GÜLŞAH İŞLER

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi BAP Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 2015/3-23YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, tez çalışmalarım konusunda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof.Dr. Metin Kılınç'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerini bizimle paylaşan değerli sayın hocalarım Prof. Dr. Fatma İnanç Tolun'a, Prof. Dr. Ergül Belge Kurutaş'a,

Labratuar çalışmalarım sırasında bana fazlasıyla yardımcı olan, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan Eda Ganiyusufoğlu'na,

Hastalardan kan toplarken bana yardımcı olan, her konuda benden desteğini esirgemeyen değerli eşim Dr. Ali İşler'e, canım babama ve anneme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, 2015/3-23 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

01-2017

Gülşah İŞLER

**KAHRAMANMARAŞ'TA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA
R202Q/R202Q, M694V/M694V, R202Q/M694V MUTASYONLARININ
NEDEN OLDUĞU KLİNİK BELİRTİLERİ ARAŞTIRMAK**

Yüksek Lisans Tezi

Eczacı Gülşah İşler

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, FMF) özellikle Akdeniz bölgesindeki toplumlarda görülen otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. FMF klinik olarak aralıklı olarak tekrarlayan 38-40 dereceye varan ateş, peritonit, plevrit ve özellikle diz, bilek ve dirsekleri tutan akut sinovit ile 1-3 gün devam eden ve atak olmadığı dönemde ise semptomların görülmediği bir hastalıktır. Aynı mutasyonu taşıyan hastalarda farklı klinik tablonun görülmesinin yanı sıra aynı mutasyonu taşıyan farklı bir hastada hiçbir klinik tablo da görülmeyebilmektedir.

Bu klinik belirtilerden yola çıkarak çalışmamızda M694V ve R202Q mutasyonlarını taşıyan hastalarda aile taraması yapılarak klinik tablo araştırıldı. Bu amaçla daha önce mutasyon taşıdığı belirlenmiş 21 hastadan ve 61 hasta yakınından kan alarak Ekson 2 bölgesindeki R202Q mutasyonu ve Ekson 10 bölgesindeki M694V mutasyonu incelendi. Sonuç olarak çok görülen mutasyonlar R202Q/M694V/M680I birleşik heterozigot genotip, R202Q/M694V birleşik heterozigot genotip ve R202Q/M694V birleşik homozigot genotip olarak belirlendi.

Aynı mutasyonu taşıyan hasta bireylerin yakınlarında klinik belirtinin olmadığı ise bu çalışmada açıkça görülmüştür. Bu da FMF tanısında sadece genetik mutasyonların yeterli olmayacağını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler : Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), MEFV geni, R202Q, M694V

Sayfa Adedi :57

Danışman : Prof. Dr. Metin KILINÇ

**RESEARCHING THE CLINICAL SYMPTOMS CAUSED BY R202Q/R202Q,
M694V/M694V, R202Q/M694V MUTATIONS IN MEDITERRANEAN FEVER
PATIENTS IN KAHRAMANMARAŞ**

Master Thesis

Pharmacist Gülşah İşler

ABSTRACT

Familial Mediterranean Fever (AAA,FMF) is a recessive disease with an autosomal inheritance pattern which is seen in the societies of mediterranean region. FMF is a disease which is clinically periodic; having symptoms of fever up to 38-40 degrees, peritonitis, plevrit; and especially influencing the knee, wrist and elbow; lasting 1-3 days with acute sinovit; and in the period of time when the attack does not happen, symptoms does not monitored. Different clinical pictures might be observed in patients who have the same mutation. No clinical picture might be observed in a patient who has the same mutation.

Starting from this clinical symptoms, I made family scanning in patients who has M694V and R202Q mutations and I searched the clinical picture in these patients. For that purpose, from 21 patients and 61 patients' relatives who were determined that they had the mutation were drawn blood. R202Q mutation in Ekson 2 zone and M694V mutation in Ekson 10 zone were analyzed. As a result, R202Q/M694V/M680I in united heterozygote genotype, R202Q/M694V in united heterozygote genotype, and R202Q/M694V in united homozygote genotype were determined as most seen mutations.

It is seen obviously that patients' relatives who have the same mutation does not have any symptoms in our study. This demonstrate that only having the genetic mutations is not enough to diagnose the fmf.

Key Words : Familial Mediterranean Fever (FMF), MEFV gene, R202Q, M694V

Page Number :57

Supervisor : Prof. Dr. Metin KILINÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA).....	2
2.2. FMF Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi	2
2.3. Patogenez	3
2.4. Klinik Bulgular.....	4
2.5. FMF Tanı Kriterleri ve Tedavi	7
2.5.1 Labratuar Bulguları	10
2.6. Genetik	12
2.6.1 MEFV Gen Mutasyonları	13
2.6.2 Fenotip – Genotip İlişkisi	14
3. MATERYAL METOD	15
3.1. Materyal	15
3.2. Metod	15
3.2.1. DNA Ekstarksiyonu	15

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	16
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	17
3.2.4.Exosap	17
3.2.5.Döngü Sekans Reaksiyonu	18
3.2.6. PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu	18
3.2.7. DNA Sekans Analizi	19
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
7. KAYNAKLAR.....	35
8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	42
9. TABLOLAR DİZİNİ	43
10. DİZİ DİZİNİ.....	44
11. ÖZGEÇMİŞ	45

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAA (FMF): Ailevi Akdeniz Ateşi (Familial Mediterranean Fever)

MEFV: Ailevi Akdeniz Ateşi geni (Mediterranean Fever)

SAA: Serum Amiloid A

cDNA: Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit

kb: Kilobaz

M: Metiyonin

A: Alanin

V: Valin

I: İzolösin

E: Glutamik asit

Q: Glutamin

D: Aspartik asit

T: Treonin

P: Prolin

S: Serin

N: Asparjin

F: Fenilalanin

K: Lizin

R: Arginin

H: Histidin

G: Glisin

del: delesyon

Pyrin: Pirin proteini

kDa: Kilo Dalton

IL-1 β : İnterlökin-1 beta

PyD: Pirin Domaini

CRP: C- Reaktif Protein

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör alfa

IL-1: İnterlökin-1

IL-2: İnterlökin-2

IL-6: İnterlökin-6

IL-8: İnterlökin-8

C5a: Kompleman5a

sICAM-1: Hücreler arasındaki eriyebilir yapışma molekülü

ESR: Eritrosit Sedimentasyon Hızı

WBC: Beyaz Kan Hücreleri

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

mg: Miligram

dl : Desilitre

NSAID: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar

cm²: Santimetre kare

CPK: Kreatin fosfokinaz

C3: Akut faz reaktanı

C4: Akut faz reaktanı

p: Kromozomun kısa kolu

°C: Santigrat derece

L: Litre

μ L: Mikrolitre

mL: Mililitre

dL: Desilitreg: Gram

ng: Nanogram

g: Devir sayısı

pH: Asitlik-bazlık derecesi

M: Molar

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

TBE: Tris-Borik asit EDTA



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) veya Familial Mediterranean Fever (FMF) özellikle akdeniz bölgesinde yaşayan Türk, Yahudi ve Ermeni kökenli topluluklarda yaygın olarak gözlenen aynı zamanda Yunan, İtalyan, İspanyol ve Japon gibi toplumlarda da gözlenen otozomal resesif geçişli bir hastalıktır(1). Bu hastalık ara ara gözlenen atak şeklinde gelen ateş ve ona eşlik eden seröz zarların inflamasyonu sonucu oluşan; ‘karın ağrısı’, ‘eklem ağrısı’, ‘göğüs ağrısı’ ve ‘erizpel benzeri kızarıklık’ ile karakterizedir (2).

1991 yılında AAA’dan sorumlu gen, 16. Kromozomun kısa kolunda tanımlanan MEFV (Mediterranean Fever) geninin 1997 yılında moleküler dizisi bulunmuştur ve MEFV geni pirin/marenostrin adındaki aminoasiti kodlamaktadır ve oluşan bu protein, inflamasyonda rol almaktadır. Pirin proteininin lökositleriazaltıcı yönde bir etkisi olduğu tespit edilmiştir (3, 4).

M694V, M680I, E148Q, V726A MEFV geninde tespit edilen ve şu zamana kadar ülkemizde en sık görülen mutasyonlardır. FMF hastalığına sahip Türklerin %43.5’inde M694V mutasyonu görülmüştür (5). MEFV genindeki 2.ekzonda görülen R202Q mutasyonunun M694V mutasyonu ile cis pozisyonda bulunduğu gösterilmiştir (6). Bu nedenle daha önce MEFV gen mutasyon analizleri yapılmış olup ve tek taraflı mutasyon taşıdığı tespit edilen ya da hiçbir mutasyon tespit edilemeyen hastalarda R202Q mutasyonunun taranmasının FMF hastalığında tanı açısından yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda DNA sekans analizi kullanarak hasta ve hasta yakınlarında aile taraması yapıldı ve R202Q/R202Q, M694V/M694V, R202Q/M694V mutasyonlarının neden olduğu klinik belirtiler araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, FMF)

FMF, Doğu Akdeniz Havzasında yaşayan bölge halklarında genellikle Türk, Yahudi ve Ermeni kökenli halklarda sık görülen, bununla birlikte Yunan, İtalyan, İspanyol ve Japon gibi diğer toplumlarda da gözlenmiş olan otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır (7, 8).

FMF klinik olarak aralıklı olarak tekrarlayan 38-40 derece civarında ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı ve özellikle diz, bilek ve dirsekleritutan akut sinovit ile 1-3 arası süren ve atak olmadığı dönemde ise semptomların görülmediği bir hastalıktır. Atak sıklığı hastadan hastaya değişmektedir. Bazı hastalarda her hafta atak görülmekte bazı hastalarda ise haftalarca hatta aylarca tekrarlanmamaktadır.

Hastalığın en ciddi yan etkisi daha çok böbreklerde görülen amiloidozdur ve bu gruba giren hastalarda atak daha önce pek görülmemiştir. Yani bu hasta asemptomatiktir. Asemptomatik olan hastada kolşisin kullanmadığından ötürü amiloidoz gelişme riski fazladır. (2).

2.2. FMF Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

FMF semptomlarını taşıyan ilk vaka sunumunu iki Newyork'lu hekim olan Janeway ve Rosenthal'ın (9) 1908 yılında, tekrarlayan yüksek ateş, şiddetli karın ağrısı ve lökositozu olan 16 yaşındaki bir çocuğu tanımlamasıyla ortaya çıkmıştır. 1945 yılında Siegal (10) kendisinde ve 10 Askenazi Yahudisi'nde aynı semptomların olduğunu gözlemlemiş, bu olgular tartışılmış ve farklı bir klinik tablo olduğu belirtilerek 'Benign Paroksimal Peritonitis' adı ile yayınlanmıştır. 1948 yılında Reiman 'Periyodik hastalık' tanımlamasını kullanmıştır. Mamou ve Catton tarafından FMF'nin 1951 yılında genetik geçişi ve amiloidoz ile ilişkisi gösterilmiştir ve 1956 yılında yine Catton ve Mamou FMF'nin otozomal resesif geçiş gösterdiğini tanımlamışlardır. 1960 yıllarında hastalık daha ayrıntılı olarak tanımlanmış, hastalık en çok Akdeniz kökenli halklarda görüldüğünden 'Ailevi Akdeniz Ateşi' (Familial Mediterranean Fever) ismi önerilmiştir (11). İlk kez 1972 yılında kolşisinin FMF tedavisinde atakları ve amiloidozu önlediği Goldfinger (7) tarafından gösterilmiştir.

1997 yılında Uluslar Arası FMF konsorsiyomu (12) ve Fransız FMF Konsorsiyomu (13) ayrı ayrı çalışma yaparak FMF geni MEFV'nin (MediterraneanFever) 16. Kromozomun kısa kolunda olduğu bildirilmiştir. MEFV geni bulunduktan sonra bu gendeki mutasyonlar tespit edilmeye başlanılmıştır. Taşıdığı mutasyonlar ortaya çıktıktan sonra FMF hastalığının yaygın görüldüğü toplumlarda bu mutasyonların hangi tür klinik belirtilere yol açtığı araştırılmıştır. Fakat halen günümüzde genotip ile fenotip arasındaki bağ çözülememiştir.

FMF özellikle Doğu Akdeniz bölgesinde yaşayan toplumlarda ve en sık olarak Sefardik Yahudiler, Ermeniler, Türkler ve Araplar dadaha yoğun bir şekilde görülmektedir (11). Bununla birlikte İspanya, İtalya, Yunanistan ve Mısır'da da tanımlanmıştır. Sefardik Yahudilerde FMF yaygınlığı 1/250 ve 1/500 arasındadır (14). Hastalığın Türklerdeki yaygınlığı 1/1075 kadardır (15). Hastalığın taşıyıcı frekansı Türklerde 1/5, Sefardik Yahudilerinde 1/11 ve Ermenilerde ve Kuzey Afrika Yahudilerinde ise 1/7 olarak tespit edilmiştir (14).

Hastalığın isminde Akdeniz geçmesine rağmen Türkiyede FMF'in en çok görüldüğü bölgeler Anadolu (Sivas,Tokat,Kayseri), Batı Karadeniz (Kastamonu,Sinop), Doğu Karadeniz iç kesimleri (Gümüşhane,Bayburt) Doğu ve Güneydoğu Anadolu (Ağrı,Kars,Erzurum,Malatya)'dur (16).

2.3. Patogenez

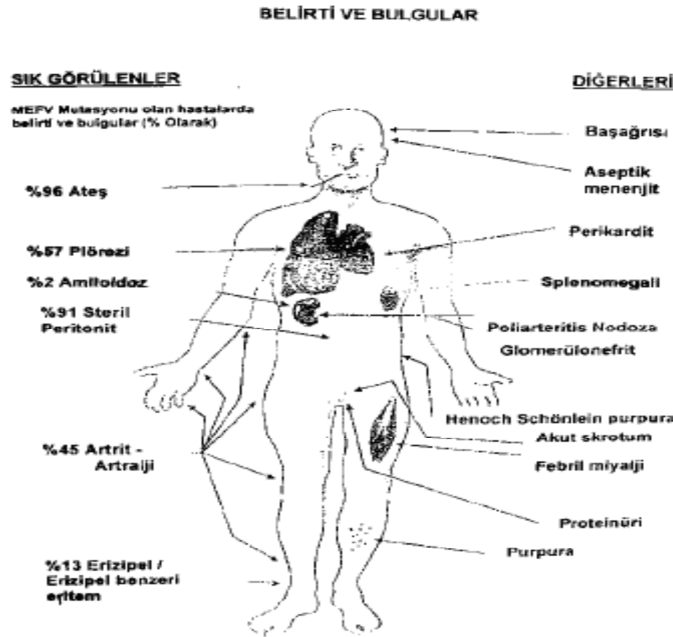
Otozomal resesif geçişli olan mutasyon görülmesi sonucunda FMF hastalığına neden olan MEFV geni sağlıklı bireylerde pyrin (marenostin) adı verilen 781 aminoasit içeren ve normal koşullar altında inflamasyonu baskılayan bir proteini kodlamaktadır. MEFV proteininde oluşan bir mutasyon pyrinin görevini yapamamasına, inflamasyonun kontrol edilememesine ve bunların sonucunda FMF'e neden olmaktadır.

Çeşitli travmalara ve sitokinlere bağlı stres nedeniyle eklemlerde oluşan inflamatuvar yanıt sağlıklı bir bireyde pyrin proteini sayesinde baskılanabilirken, FMF'li bireylerde bu mekanizmanın yeterince kontrol edilemediği düşünülmekte ve buna bağlı olarak bu hastalarda inflamasyon oluşmaktadır (7).

2016 FMF veri tabanında ise 314 gen değişimi bildirilmiştir (6).Bildirilen mutasyonların büyük çoğunluğu missense (yanlış anlamlı) mutasyonlardır. Daha önce yapılan araştırmalarda en sık görülen üç mutasyon olan M680I, M694V ve V726A ile klinik belirtiler ilişkilendirilmiştir (17-19). Özellikle M694V mutasyonunu homozigot olarak taşıyan bireylerde klinik semptomların daha fazla görülmesi (klinik belirtilerin erken başlaması, atakların sık görülmesi, atakları baskılayabilmek için yüksek doz kolęisin kullanma zorunluluğu, amiloidoz gelişimi gibi) arasında bağ kurulmuştur (20-22).

Daha önce yapılmış çalışmalarda amiloidoz oluşması için sadece M694V mutasyonunun önemli olmadığı amiloidoz gelişiminde diğer mutasyonların, kolęisin dozunun, atak sıklığının, beslenme ve diğer çevresel faktörlerin etkisinde araştırılmaktadır(23).

2.4. Klinik Bulgular



şekil 2.1: FMF de klinik bulgular

FMF; periton, sinoviyum ve plevra gibi seröz zarların akut inflamasyonu ve ateş ykseklıği ile karakterize ve 1-3 gün süren ataklarla kendini gösteren bir hastalıktır. Ataklar arasında belli bir aralık yoktur ve ataklar önceden belirlenemeyen herhangi bir anda ortaya

çıkabilmektedir. Bu da FMF için önemli bir özelliktir. Ataklar arası süre bazen kısa bazen ise uzun olmaktadır. Geçirilen her atakda farklı şikayetleri olan hastalar olduğu gibi her atağında aynı klinik tablonun görüldüğü hastalarda bulunmaktadır (24).

Klinik olarak iki fenotipte FMF hastaları vardır. Fenotip I grubunda bulunan hastaların çoğunda yüksek ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı gibi semptomların bir çoğu gözlenmekte ve daha sonrasında bu hastalarda amiloidozda oluşmaktadır. Fenotip II grubunda bulunan hastalarda ise hiçbir klinik tablo gözlenmeden 13-15 yaşlarında renal amiloid geliştiği gözlenmektedir. (23).

Bazı hastalarda FMF atakları menstruasyon, duygusal stres veya ağır fiziksel aktivite olan zamanlarda olmaktadır (19). Bunun yanında soğuk ortam, yağlı besinler, gebelik durumu atak oluşmasını tetiklemektedir ve sonucunda atak sıklığı artmaktadır (25). Ataklar çoğunlukla 1 ila 3 gün arası sürer ve hastaların %50 si ayda 1 ila 3 arasında atak geçirir. FMF belirtileri genellikle erken yaşlarda ortaya çıkar. Hastaların %75'i ilk 10 yaşta, %80'i ilk 20 yılda atakla karşılaşır, çok seyrek olarak da 40 yaşından sonra ilk atak gözlenmektedir (26). Hastalıkteşhis yaşının genç olması, kolşisin tedavisine erken başlanılmasını ve bu sayede daha iyi bir klinik tablonun gözlenmesine neden olur. FMF bir ailenin birbirini izleyen neslinden çok, aynı neslin farklı kişilerinde görülmektedir. Bu gözlem FMF deki mutasyonların otozomal resesif olarak geçiş yaptığı hipotezini doğrulamaktadır.

FMF'de hastanın ateşi atak geçirdiği süre boyunca 38 derecenin üstünde olmaktadır ve bu hastaların ortalama %90'ında görülür. Ancak kolşisin kullanan hastalarda nöbetleri sırasında ateş olmayabilir (19, 27).

Hastalarda gözlenen en yaygın semptomlardan biri abdominal ataklar yani karın ağrısıdır ve bu semptom hastaların yaklaşık %90'ında gözlenir. Karında gözlenen bu ağrı öncelikle bir bölgede başlayabilir ancak kısa zamanda tüm karın bölgesinde yayılır. Hastalar önce hafif bir şişkinlik hisseder fakat daha sonra ağır peritonit gözlenir. Atak sonrasında %30'a yakınında diyare gözlenir (19, 27).

Hastaların %15-30'unda atağın sonlarına doğru plevral atak gözlenmektedir. Plevral ataklar sonucunda solunum seslerinde azalma, arada kalp ve göğüs ağrısı şeklinde kendini gösterir. Bu semptom hastada kısa bir süre görülür (28).

FMF de en çok görülen ikinci belirti ise artiküler ataktır. Çocuk döneminde teşhis koyulmuş FMF hastalarında artrit görülme sıklığı daha fazladır. Akut olarak yüksek ateş ile

beraber bir gün civarında süreren çok görüldüğü bölgeler diz ve ayak bileğidir. Omuz, dirsek ve el bileğinde ise nadiren görülebilmektedir.(29, 11). Tutulan bölgeler oldukça ağrılı olup eklem hareketlerini kısıtlayabilmektedir.Artiküler ataklar daha çok hafif travmalarda ve yüksek tempolu yürüyüşlerde görülmektedir. Eklemlerde oluşan Synovial sıvı sterilidir ve içerisinde bol miktarda nötrofil bulunmaktadır.

Perikardit FMF hastalarında nadir olarak görülür ve bunun atakları 1-3 gün içerisinde kendiliğinden kaybolur (28).

Eklem ağrısı ayak bileği yada dizde görülmektedir. Ağrı olduğu zamanlar da bazen eklemden şişlik ve daha çok FMF’de görülen erizipel benzeri eritem denen kırmızı döküntülerde olmaktadır. Nadir görülen bulgular arasında bacak ağrıları, miyozit, menenjit ve orşit de vardır. Bu semptomlar daha çok erken yaşlarda görülmektedir. yaş ilerledikçe eklem ağrısı şikayetleri daha az görülmektedir.

Amiloidoz oluşumunu sağlayan nefropatik Amiloid-A FMF’in en ciddi ve ölümcül komplikasyonudur. Tedavi edilmeyen hastaların %90’ında 40 yaşına kadar amiloidoz geliştirir (30). 104 aminoasitli Serum Amiloid-A (SAA) proteini hepatosit, fibroblast ve monositlerden sentezlenir. İnflamasyon oluştuğunda serum SAA düzeyi 100-1000 katı artar. İnflamasyon durumunun fazla olması nedeniyle normalden fazla SAA proteinin yıkılması sonucunda bu proteinin suda çözünmeyen 76 aminoasitlik amino terminali dokularda hücre dışında birikmeye başlar ve zamanla başta böbrek olmak üzere bir çok organın sisteminde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (19).

Ailede daha önce amiloidoz görülmüş olması, anne-baba arasında akrabalık bulunması, cinsiyetin erkek olması ve hastada daha çok eklem ağrısının görülmesi amiloidoz oluşma riskini arttırmaktadır.

Etnik özellikler amiloidoz gelişmesini etkiler. Yapılan bir çalışmada Sefardik Yahudilerinde %37, Non-Askenazi Yahudilerinde %27, Türklerde %12, Ermenilerde %24 oranındaamiloidoz geliştiği bildirilmiştir. FMF amiloidozunun daha önce ilk olarak böbreği etkilediği belirtilmişti. Böbrek dışında mide-barsak, dalak, karaciğer, tiroid, nadiren kalp yetmezliği, akciğer ve testislerde amiloid birikimi görülebilmektedir. Mide-barsak’ta amiloid gelişmesi sonucunda emilim bozukluğu ve ishal, dalakda gelişmesi sonucunda splenomegali, karaciğerde gelişmesi sonucunda hepatomegali, tiroid de gelişmesi sonucunda ise guatr ve hipotiroidi oluşabilmektedir (30).

2.5. FMF Tanı Kriterleri ve Tedavi

Günümüzde FMF de tanı koyabilmek için özellikli bir test yoktur. FMF teşhisi anamnez ve moleküler yöntemlere bakılarak konulmaktadır. Hastalığın moleküler düzeyde tanısı 1997 yılında FMF geni kopyalanıp çoğaltılabildikten sonra yapılabildi. Bu nedenle 1997 yılından önce FMF şüphesi olan hastalarda tanı ancak klinik semptomlara bakıldıktan sonra benzer semptomlar gösteren diğer hastalıkların da ayırıcı tanılarını yapılarak konulmakta idi. Bunun dışında hastalara kolşisin verilerek klinik belirtilerin gerilediğinin gözlenmesi de FMF tanısı için yeterli oluyordu. Bu yöntem günümüzde hala FMF teşhisi koyulmasında bir parametre olarak kullanılmaktadır.

Tanı için ayrıca klinik belirtilerin uygun olması, belli etnik kökenlerden olma, kolşisin tedavisine cevap ve farklı bir patolojinin neden olmadığı FMF tipi amiloidoz, önemlidir. FMF şüphesi olan hastalarda tanıyı güçlendirmek için MEFV gen analizi yapılmaktadır. Fakat her MEFV mutasyonu taşıyan birey hasta demek değildir, FMF teşhisi koyulabilmesi için klinik en önemli faktörlerden biridir. Diğer bir yandan kolşisin yanıtı alınan FMF hastalarında MEFV geni mutasyonları bulunamayanlar da vardır (31).

FMF de klinik tanı için geliştirilmiş üç farklı tanı grubu vardır. Bunlardan en çok tercih edileni ve klinik kullanımı kolay olan Tel–Hashomer tanı kriteridir (32).

1. FMF için Tel–Hashomer Kriterleri

- **Majör kriterler:**

- Peritonit, plevrit veya sinovitrin ile beraber görülen tekrarlayan ateş atakları,
- Sebebi belli olmayan FMF tipi amiloidoz,
- Sürekli kolşisin tedavisine pozitif yanıt

- **Minör kriterler:**

- Tekrarlayan ateşli ataklar

- Erizipel benzeri eritem
- Birinci derece akrabalarda FMF öyküsü

Hastaya kesin tanı konulabilmesi için 2 majör veya 1 majör ve 2 minör kriterin bulunması gerekir. Eğer hastada 1 majör ve 1 minör kriter olması halinde FMF tanısına yaklaşılr ve hastanın kolşisinle kliniğinin düzelmesi ile kesin tanıya gidilir (33).

2. FMF için Livneh Kriterleri

• Majör kriterler:

- Peritonit (yaygın)
- Plörit (tek taraflı) yada perikardit
- Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)
- Tek başına ateş

• Minör kriterler:

- İnkomples abdominal ataklar
- İnkomples göğüs atakları
- İnkomples artrit atakları
- Ekzersiz ile bacakta ağrı
- Kolşisin tedavisine yanıt

Livneh kriterinde hastaya kesin tanı konulabilmesi için en az bir majör kriter yada en az iki minör kriter olması yeterlidir (34).

3. FMF için Yalcinkaya ve ark.'nın Çocuk Hastalardaki Kriterleri

- Üç ataktan fazla olan koltuk altından ölçülen ateşin 38°C'den fazla olması ve 6-72 saat süresince görülmesi
- Üç ataktan fazla karın ağrısının 6-72 saat süresince devam etmesi
- Üç ataktan fazla göğüs ağrısının 6-72 saat süresince devam etmesi
- Üç ataktan fazla artrit 6-72 saat süresince devam etmesi ve oligoartrit
- Aile öyküsünde FMF olması

Yalçinkaya ve ark.'nın çocuk hastalardaki kriterine göre en az iki kriterin olması kesin tanı için gereklidir (34).

1973 yılına kadar FMF'e yönelik yapılan tedaviler görülen kliniği azaltmaya veya kesmeye yöneliktir. Ancak 1972 yılında kolşisinle tedavi önerilmiş ve sonrasında yapılan diğer klinik çalışmalarla kolşisin günümüzde önemini koruyan ve hala en önemli olan medikal tedavi yöntemidir (7, 32).

Kolşisin yüksek konsantrasyonlu nötrofil mikrotübüllerini tespit ederek yeni mikrotübüllere polimerizasyonu, intrasellüler taşınımını, mitozu, inflamasyon faktörleri salınımını ve kemotaksisi önler. İnflamasyon bölgesine lökosit geçişini bloke eder. Ayrıca hücre membranının içerdiği bağlantı moleküllerinin (endotel hücrelerinde E-selektin, nötrofillerde L-selektin) cevabını azaltarak nötrofillerin hedef serozal dokulara adezyonuna engel olur (35, 36).

Profilaktik kolşisin dozu hastanın yaşına, ağırlığına ve klinik belirtilerin durumuna bakılmaksızın 1–1,5 mg/gündür. Doz artırılması gereken durumlarda verilecek doz miktarının gün içinde bölünerek verilmesi tavsiye edilir. Eğer hastada 2mg/gün doz ile klinik gerileme sağlanamıyorsa kolşisin direnci akla getirilmelidir. Böyle bir durumda daha yüksek kolşisin dozunun etkili olmayacağı çalışmalarda gösterilmiştir. (19).

Synovit gibi eklem bulguları kolşisin tedavisine yanıt vermezken, karın ağrısı ve plevral ataklar kolşisin tedavisiyle azalmaktadır ve atak şiddeti hafiflemektedir. Kolşisin tedavisini düzenli almayan hastaların atak sıklığında ve şiddetinde artışlar gözlenmektedir. Akut atak esnasında indometazin gibi NSAİİ da kolşisin yanıtına destek amacıyla ve ağrının hafifletilmesinde yardımcı olarak tercih edilebilir. Bazı durumlarda tercih edilen steroidler FMF akut atağı baskılamada etkisiz olup ayırıcı tanıda kullanılmaktadır. Kliniğinde vaskülit gelişen FMF hastalarında ise tedavide steroidin olumlu etkileri görülmektedir ve eklenmesinde fayda vardır (19).

Gebelik süresince kolşisin kullanımı erken doğumu ve düşük riskini azaltmaktadır. Ancak günlük kolşisin dozu azaltılarak 0.5-1 mg olması tavsiye edilmektedir. Laktasyon döneminde süte geçen miktar çok az olduğu için emzirme döneminde ilaca devam edilmelidir (34).

Kolşisin amiloidoz birikimini engeller. İsrail' yapılan 11 yıllık bir retrospektif bir klinik takipte düzenli kolşisin kullanan hastaların sadece %2'sinde amiloidoz birikimi

patolojik olarak saptanırken, kolşisini düzenli almayan veya hiç almayan hastaların %49'unda amiloidoz birikimi saptanmıştır. Buna bağlı olarak günde düzenli 1,5 mg kolşisin kullanan ve serum kreatinin seviyesi 1,5 mg/dl'nin altında seyreden hastalarda kolşisin amiloidoza bağlı proteinüriyi ve böbrek fonksiyonlarında bozulmayı yavaşlatmakta ve hatta geriletmeştir. Bu sebepten dolayı hasta kolşisin direncine sahip olsa bile amiloidoz birikiminin olmaması için kolşisini düzenli kullanmalıdır (37).

Kolşisinin kullananlarda en çok görülen yan etkiler geçici karın ağrısı, bulantı, kusma ve diyaredir. Kullanılan doz miktarı azaltıldığında bu şikayetlerde de azalma olmaktadır. Bu yan etkiler dışında kronik tedavide ender olarak kemik iliği baskılanması, periferik nöropati, miyopati, alopesi, oligospermi, azospermi, anjinörotik ödem görülebilir (38).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada kolşisin tedavisine yanıtızsız 7 hasta ile interferon-alfa (IFN- α) kullanımı çalışması yapılmıştır. Bu 7 hastada toplam 21 atak görülmüş olup IFN- α verilmiştir ve bu atakların 18 inde azalma sağlanmış ve ataklar yaklaşık olarak 3 saat devam etmiştir. Fakat hala bu konuda klinik olarak kanıtlanmış yeterli bir çalışma yoktur (39).

FMF hastalarında atak sırasında kanda yükselen majör proinflamatuvar sitokin olan IL-1 ve TNF'ye karşı geliştirilen anti-TNF ve IL-1 antagonistlerigünümüzdeki en son tedavi yaklaşımlarıdır. TNF'nin inflamasyondaki major etkisi bilindiğinden dolayı anti-TNF tedavisi bir çok çalışmada etkinliğini kanıtlanmış ve tavsiye edilmiştir. Kolşisin, steroid, hidrosiklorokin, metotreksat tedavisinde yanıt alınamayan kronik kalça artritli olan bir FMF hastasında infliksimab kullanımı ile hızlı bir olumlu klinik düzelme gözlenmiştir. IL-1 β 'nin pirin proteini tarafından üretilen bir protein olduğu bilinmektedir. önemi bilinmektedir. Rekombinan IL-1 antagonisti olan anakinra da son zamanlarda tedaviye dirençli FMF hastalarında kullanılmakta ve önerilmektedir (40).

2.5.1. Laboratuvar Bulguları

FMF teşhisi için kesin tanı kriteri olan bir laboratuvar testi şu ana kadar geliştirilememiştir. Bu nedenle tanısı daha çok klinik belirtilere dayalı olmaktadır (56). Atak sırasında fibrinojen, C-reaktif protein(CRP), serum amiloid A(SAA), lökosit ve eritrosit sedimentasyon hızı yükselir. Atak sona erdiğinde bu değerler normal aralığa döner. Bu klinik tanı açısından önemli bir bulgudur. Bazı FMF hastalarının ataksız döneminde bile CRP, lökosit gibi akut faz reaktanlarının yüksek olduğu bildirilmiştir (41).

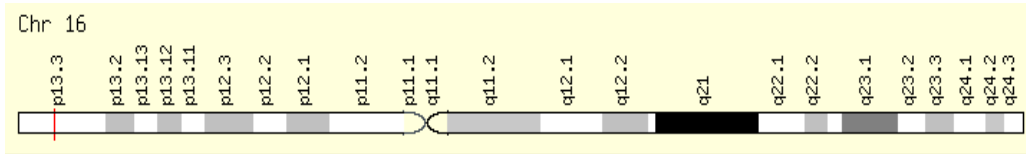
Korkmaz ve arkadaşları çalışmasında immunoglobulin düzeylerinin atak dönemde arttığı söylenen çalışmaların aksine atak dönemi ve ataksız dönem arasında anlamlı bir farklılık saptamamıştır (42).

Tam idrar tetkiki büyük oranda amiloidozu birkimi bulunmayan hastalarda normaldir. Ataklar esnasında idrarda kısa süreli albuminüri ve mikroskopik hematüri ile karşılaşılabilir (43). Amiloidoz varlığında kalıcı proteinüri görülmektedir. Amiloidozun erken belirtisi proteinüri olduğu için hastalara rutin olarak idrar tetkiki yapılması tavsiye edilmektedir (34).

FMF sonucu ortaya çıkan sinovitte sinovial sıvı oldukça bulanıktır ve bu sıvı milimetreküpde 100 000 düzeyine ulaşan lökosit içerebilir ve genellikle polimorfonükleer hücrelerden oluşur (43).

2.6. Genetik

1992 yılında 16. Kromozomun kısa kolu üzerinde (16p13.3) lokalize olduğu pozisyonel klonlama tekniği ile saptanan MEFV (MEditerranean FeVer) geninin moleküler dizisi iki ayrı konsorsiyum tarafından aynı zamanda 1997 yılında bulunmuştur. MEFV geni bulunduğundan sonra moleküler çalışmalar hızlı bir şekilde geliştirilmiştir (12, 13).



Şekil 2.2: MEFV geninin 16. Kromozomdaki lokalizasyonu

Otozomal resesif geçiş gösteren MEFV geni 15 kilobazlık, 3505 nükleotid içeren ve 10 ekzondan oluşan büyük bir gen olup, 781 aminoasit içeren bir proteini kodlar. Bu proteine her iki konsorsiyum da ayrı isimler vermiştir. Uluslararası FMF konsorsiyumu proteine Yunanca lökenli ve 'ateş' anlamına gelen 'Pyrin', Fransız FMF konsorsiyomu ise Latince bir kelime olan 'Marenostrin' adını vermiştir(3, 44-46).MEFV geni granülositlerde eksprese olur ve inflamatuvar yanıtın oluşmasında önemli rol oynar(47).

MEFV geninin yerini tanımlamak için işaretleyiciler kullanarak 1 milyon baz çiftinden oluşan bölge tam ve detaylı olarak haritalanmıştır. MEFV geninin D16S468/16S3070

(telomerik) ve D16S3376 (sentromerik) aralığında bulunan 285kb'lık bir bölge ile sınırlı olduğu bulunmuştur(48).

1ggaagccaga cacgtggctc gagcctctcc tgctcagcac catggctaag acccctagtg
61 accatctgct gtccaccctg gaggagctgg tgcctatga ctccgagaag ttcaagtca
121 agctgcagaa caccagtgtg cagaaggagc actccaggat cccccggagc cagatccaga
181 gagccaggcc ggtgaagatg gccactctgc tggtcaccta ctatggggaa gactacgccg
241 tgcagctcac cctgcaggtc ctgcgggcca tcaaccagcg cctgtggcc gaggactcc
301 acagggcagc cattcaggaa tattccacac aagaaaacgg cacagatgat tccgcagcgt
361 ccagctcct gggggagaac aagcccagga gcctgaagac tccagaccac cccgagggga
421 acgaggggaa cggccctcg ccgtacgggg gcggagctgc cagcctcgg tgcagccagc
481 ccgagggcgg gagggggctg tcgaggaagc cctgagcaa acgcagagag aaggcctcgg
541 agggcctgga cgcgcagggc aagcctcgg cccggagccc ggccctgcc ggcgggagaa
601 gccccggccc ctgcagggcg ctgagggggg gccaggccga ggtccggctg cgcagaaacg
661 ccagctccgc ggggaggtg caggggctgg cggggggcgc cccggggcag aaggagtga
721 ggccctcga agtgactct cctcgggaa agatgcgacc tagaagcctt gaggtacca
781 ttctacagg ggagaaggcg cccgcaaatc cagaaattct cctgactcta gaggaaaaga
841 cagctgcgaa tctggactcg gcaacagaac cccgggcaag gccactccg gatggagggg
901 catctgcgga cctgaaggaa ggccctggaa atccagaaca ttcggtcacc ggaaggccac
961 cagacagggc tgcgagtcgc cgtgccacg cccaggaagg agaccagtt gacggtacct
1021 gtgtgcgtga ttctgcagc ttccccgagg cagtttctgg gcacccccag gcctcaggca
1081 gccgtcacc tggctgccc cgggtccagg actccatga aaggaagagc ccgggaagcc
1141 taagcccca gccctgcca cagtgaagc gccacctgaa gcaggtccag ctgctctct
1201 gtgaggatca cgatgagccc atctgctca tctgcagtct gactcaggag caccaaggcc
1261 accgggtgcg cccattgag gaggtcgcgc tggaaacaaa gaagaaaatt cagaagcagc
1321 tggagcatct gaagaagctg aaaaatcag gggaggagca gcgactctat ggggaggaga
1381 aggcagtgag cttctgaaa caaactgaag cgtgaagca gcgggtgag aggaagctgg
1441 agcaggtgta ctactctcga gaacagcagg agcatttct tgtggcctca ctggaggagc
1501 tgggccagat ggttgggag atcaggaagg catatgacac ccgctatcc caggacatcg
1561 cctgctcga tgcgctgatt ggggaactgg aggccaagga gtgccagtca gaatgggaa
1621 ttctcagga cattggagac atctgcaca gggctaagac agtgcctgct cctgaaaagt
1681 ggaccactcc tcaagagata aaacaaaaga tccaactcct ccaccagaag tcagagttg
1741 tggagaagag cacaagtac ttctcagaaa cctgcgttc agaatggaa atgtcaatg
1801 ttccagagct gattggcgt caggcacatg ctgtaatgt gattctggat gcagaaaccg
1861 cttaccccaa cctcatctc tctgatgac tgaagagtgt tagacttga aacaagtggg
1921 agaggctgcc tgatggccc caaagattg acagctgtat cattgttctg ggctctccga
1981 gtttctctc tggccgctg tactgggagg tggaggttg agacaagaca gcatggatcc
2041 tgggagcctg caagacatcc ataagcagga aagggaacat gactctgctg ccagagaatg
2101 gctactgggt ggtgataatg atgaaggaaa atgagtacca ggcgtccagc gttccccga
2161 cccgctgct aataaggag cctcccaagc gtgtgggcat ctctgtggac tacagagttg
2221 gaagcatctc ctttacaat gtgacagcca gatccacat ctatacattc gccagctgct
2281 ctttctctg gcccctcaa cctatctca gcctgggac acgtgatgga gggaagaaca
2341 cagctctct gactatctg ccagtgggtg gtcaggggccc tgactgaatg cccaactg
2401 catctctct cctgctctg gcctgtatc ttgcattcac actcaatagt cacggaatgc
2461 cgactagggt ctgctgcta tgggaaatgc aaaaataaca aatatgttac tgtcccacg
2521 gagctacc cattatagca gaggtaagt aggaacgaac atgtatgca atccgggtga
2581 agacatgac tgatgacaca ccatggattt cagaggagga agtacggagt cgttcataa
2641 tccgccctg tggggtggca ctctcaggtg ctctgaaca gaagatttg ccctcattt
2701 ccctcagaac cccacggcaa ggatatatgt cccctgttc tctctctc tctctgagg

2761 atatgggaag cctagagaaa cgcaagcaga ctggattggg atagaagtat ttgtgtacct
2821 ggattaatga actatgattt tttttttt tttttgagac caaatcttgc tctgtggccc
2881 aggctggagt gcagtggcac gatctcagct cactgcaacc tcacctccc aggttcaagc
2941 gattctctg cctcagcctc ctgagcagct gggattacag gtgcgtgcca ccacaccagg
3001 ctggttttct tgtattttta gtagagacgg gggtttcacc atgtagcca ggctggctc
3061 gaactcctga cctcaggtga tccaccggcc tcagcctccc aaagtgctgg gattacaggg
3121 atgagccact gtgcccggcc tatgattctt tttttttt tttttgaga caaagtttg
3181 ctctgtcac ccagctgga gtgcagtgg gcaatcttg ctactgcaa cctccgctc
3241 ccaggttcaa gagattctc tgcctcagcc tccgaagtag ctgggattac aggcgcccgc
3301 caccatgccc ggctaattt ttgcatttt agtagacatg aggttcatc atgttgcca
3361 ggccggtctc aaactcctga cctcaggtga tgcaccacc tcagcctccc aaagtgcagg
3421 gattacaggg atgagccacc atgcctggcc atgattctta agagaattga ctgggcctca
3481 tgaataaaaa aattagaaaa tctaaaaaaa a

Dizin 2.1: MEFV geninin cDNA dizisi

2.6.1. MEFV Gen Mutasyonları

2016 FMF veri tabanında 314 gen değişimi bildirilmiştir. Bu mutasyonların bir çoğu proteinin yapısını ve fonksiyonunu değiştirmeyen yanlış anlamlı mutasyonlardır. M694V, V276A ve M680I bulunan ilk mutasyon tipleridir.

M694V mutasyonu, 10. Ekzondaki 2080. nükleotidde adeninin yerini guaninin alması sonucu metiyonin aminoasidi yerine valinin aminoasidinin oluşması sonucu ortaya çıkan yanlış anlamlı (missense) mutasyondur. M694V mutasyonu Sefardik Yahudileri, Ermeniler, Türkler ve Araplarda en sık gözlenen mutasyondur (49, 50). Türklerde M694V mutasyonunun görülme sıklığı %51.4 oranındadır (34).

V276A mutasyonu, 10. Ekzonda 2177. nükleotidde timinin yerini sitozinin alması sonucu valinin aminoasidi yerine alanin aminoasidinin oluşması sonucu ortaya çıkan missense bir mutasyondur. V276A mutasyonu en sık Askenazi Yahudileri'nde (%38) gözlenen MEFV gen mutasyonudur (51, 52). Türklerde %8.6 oranında görülmektedir (34).

M680I mutasyonu, 10. Ekzonda 2040. nükleotidde guaninin yerini adenin veya sitozinin alması sonucu metiyonin aminoasidi yerine izolösün aminoasidinin oluşması sonucu oluşan missense bir mutasyondur. Türklerde %14.4 oranında görülmektedir (34).

Sonradan bu mutasyonlara ek olarak ekzon 2'de E148Q, E167D ve T267I; ekzon 3'de P396S, ekzon 5'de F479L ve ekzon 10'da M694I, K695R, A744S, R761H, M694del ve I692del mutasyonları olduğu bildirilmiştir (44, 53).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Polikliniklerine gelerek FMF ön tanısı almış 20 hasta ve 66 hasta yakınlarına Hasta Onam Formu onaylatılarak bu kişilerden EDTA'lı tüpler içerisine 3cc kan alındı. DNA Sekans Analizi ile FMF Mutasyonu aranması için çalışma zamanına kadar +4 °C'de saklandı. Daha sonra FMF'in en sık görüldüğü ekzon 2 ve ekzon 10 gen bölgeleri incelenerek genotip-fenotip arasındaki ilişki değerlendirildi.

3.2. Metod

3.2.1. DNA Ekstraksiyonu

200 µl tam kan 1,5 ml'lik eppendorf tüp içerisine konuldu ve üzerine 200 µl Buffer BB eklendi. Daha sonra bu karışım vorteksenerek karışım üzerine 20 µl Proteinaz K eklendi ve tekrar vorteklendi. Tüpler 65 °C'de 10 dakika hot-plate de bekletildi. Daha sonra bekletilen karışım üzerine 200 µl saf etanol eklenerek tekrar vortekslendi ve kolona aktararak 5000g de 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüjden sonra kolonun altında kalan kısım atıldı, üstünde kalan filtrelili kısmın üzerine 500 µl Wash Buffer 1 eklenerek 5000g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Tekrardan kolonun altında kalan kısım atılarak filtrelili kısmın üzerine 500 µl Wash Buffer 2 eklenerek 5000g'de 1 dakika santrifüjlendi. Kolonun altında kalan kısım atıldı ve filtrelili kısmın üzerine 500 µl Wash Buffer 2 eklenerek maksimum hızda 3 dakika tekrar santrifüjlendi. Filtrelili kısım 1,5 ml'lik eppendorf tüpe aktarıldı. Üzerine 100 µl Elution Buffer eklenerek 5000g'de 1 dakika santrifüjlendi. Artık filtrelili kısımdan DNA elde edilmiş oldu ve kullanıma hazır olarak -20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Uyguladığımız PCR metodunda ekzon 2 ve ekzon 10 için farklı karışımlar hazırlandı.

Ekzon 2’de PCR ile çoğaltma işleminde her bir tüp için PCR tüpüne tüpüne 7.5 µl GML PCR mix, 1.0 µl Ekson 2 Primer Mix, 0.2 µl GML Taq Polimeraz, 3 µl G/C Enhancer, 2 µl Distile su ve 1.5 µl Genomik DNA (20-60 ng/ µl) eklenerek karıştırıldı.

Ekzon 10’da PCR ile çoğaltma işleminde her bir tüp için PCR tüpüne 7.5 µl GML Master Mix, 3 µl G/C Enhancer, 1.0 µl Ekson 10 Primer Mix, 2 µl Distile su ve 1.5 µl Genomik DNA (20-60 ng/ µl) eklenerek karıştırıldı.

Kaç örneklik çalışma yapılacaksa bir örnek fazlası hesap edilerek karışım hazırlanır. Karışım PCR tüplerine ortalama 13,5 µl olacak şekilde dağıtılır. Üzerine 1,5 µl örneğin DNA’sından eklenir ve tüplerin içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edilerek aşağıdaki PCR protokolü uygulanır.

Tablo 3.1: DNA PCR Protokolü

Reaksiyon Aşaması	Yapılan İşlem	Sıcaklık	Süre
1	Polimeraz aktivasyonu	95 °C	10 dakika
2	Amplifikasyon (35 döngü)	95 °C	40 saniye
		62 °C	1 dakika
		72 °C	50 saniye
3	Son Uzama	72 °C	7 dakika
4	Muhafaza	4 °C	Süresiz

PCR yapıldıktan sonra DNA’lar %2’lik agaroz jelde yürütülür ve PCR bantlarına bakılır. PCR bandı görülen örnekler içim exosap aşamasına geçilir. PCR bantları çok zayıf veya hiç olmayan örneklerin yeniden PCR’a alınması gerekir.

3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Çalışmamızda %1'lik agaroz jel hazırlayarak PCR ürünlerimizi değerlendirdik. %1'lik agaroz jel hazırlamak için öncelikle 1g agaroz tartıldı ve daha sonra 1xTBE tampon çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlandı. Agaroz hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı ve 15 dakika soğutulması için bekletildi. Jel tabağına (OWL Easycast B2 Thermo Scientific, ABD) uygun tarak konulduktan sonra agaroz jel jel tabağına dökülür ve agarozun donması için 30 dakika beklenir. 30 dakika sonunda jel tabağı jel elektroforez tankına yerleştirilir ve jel tankı 1xTBE tampon çözeltisi ile sınır çizgisine kadar doldurulduktan sonra tarak çıkarıldı. 1 µl boya (loading dye) (Vivantis, Malezya) ve 5 µl PCR ürünü parafilm üzerinde karıştırıldı ve jelin yırtılmamasına dikkat edilerek jele yüklendi. Güç kaynağı (Thermo Scientific EC 300 XL, ABD) 120 volt, 60 amper olacak şekilde ayarlandı ve 60 dakika bekletildi. Daha sonra jel 15 dakika Etidyum Bromür içeren çözeltide 15 dakika bekletildi. UV transillüminatörde görüntülenerek DNA olup olmadığına bakıldı ve bilgisayara kaydedildi.

3.2.4. Exosap

Görüntüleme sonucu elde edilen DNA'lara 2 µl exosap, 5 µl PCR ürünü PCR tüpünde eklendi ve karıştırıldı. Bu işlem Ekzon 2 ve Ekzon 10 da her bir örnek için yapıldı. Daha sonra aşağıdaki PCR işlemi aşamaları yapıldı.

Tablo 3.2: PCR aşamaları

Reaksiyon Aşaması	Yapılan İşlem	Sıcaklık	Süre
1	Enzim Aktivasyonu	37 °C	30 dakika
2	Enzim İnaktivasyonu	80 °C	15 dakika
3	Muhafaza	4 °C	Süresiz

3.2.5. Döngü Sekans Reaksiyonu

Exosaplanmış PCR ürünlerindeki her bir örnek için PCR tüpüne 2 µl BigDye Terminator Mix, 2 µl Sequencing Buffer, 2 µl Sequence F Primer, 2 µl Distile su, 2 µl PCR ürünü eklenerek karıştırıldı. Daha sonra aşağıdaki PCR işlemi aşamaları gerçekleştirildi.

Tablo 3.3: Döngü sekans PCR işlemi aşamaları

Reaksiyon Aşaması	Yapılan işlem	Sıcaklık	Süre
1	Aktivasyon	96 °C	1 dakika
2	Sekans (25 Döngü)	96 °C	10 saniye
		50 °C	5 saniye
		60 °C	4 dakika
3	Muhafaza	4 °C	Süresiz

3.2.6. PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu

1 gr Sephadex üzerine 14 ml steril saf su eklenerek falkon tüp içerisinde karıştırıldı. 15 dakika boyunca karıştırma işlemi yapıldı ve karışımın kıvamının tam olması için +4 °C’de bekletildi. Hazırlanan Sephadex karışımından her bir kolona 700 µl konuldu. Kolon 2000g’de 2 dakika santrifüj edildi ve karışımın kolon içinde tabaka oluşturması sağlandı. Kolon oluşan kısım temiz Eppendorf tüpüne aktarıldı. PCR ürünleri dikkatli bir şekilde kolonun içine 10 µl olacak şekilde yerleştirildi. 2000g’de 2 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonucu altta kalan sıvı kısımdan 16 µl alınarak paletlere yüklendi.

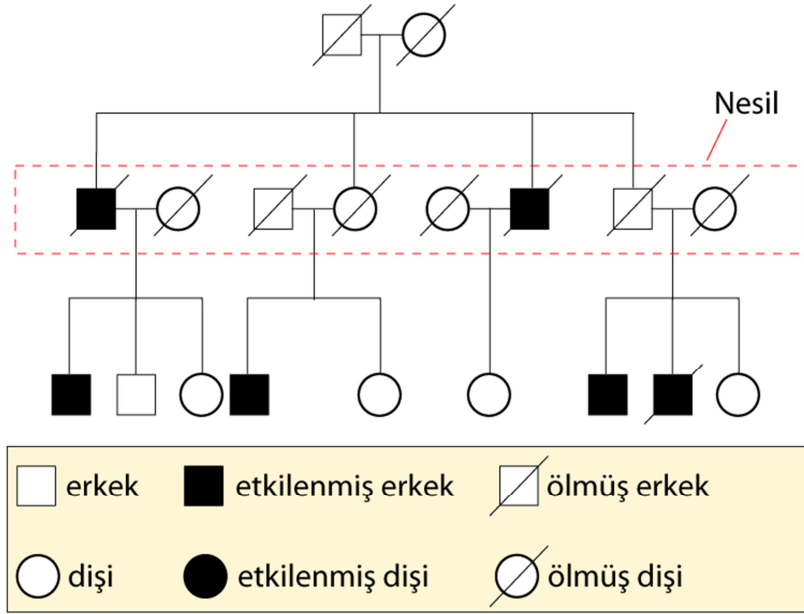
3.2.7. DNA Sekans Analizi

DNA Sekans Analizi için ABI PRISM 3130xl Analyzer cihazı ile ticari kit kullanıldı. Hazırlanan palet cihaza yüklendi. Örneklerdeki Ekson 2 ve Ekson 10 daki tüm mutasyonlar taranarak araştırıldı ve sonuçlar bilgisayara kaydedilerek değerlendirildi.

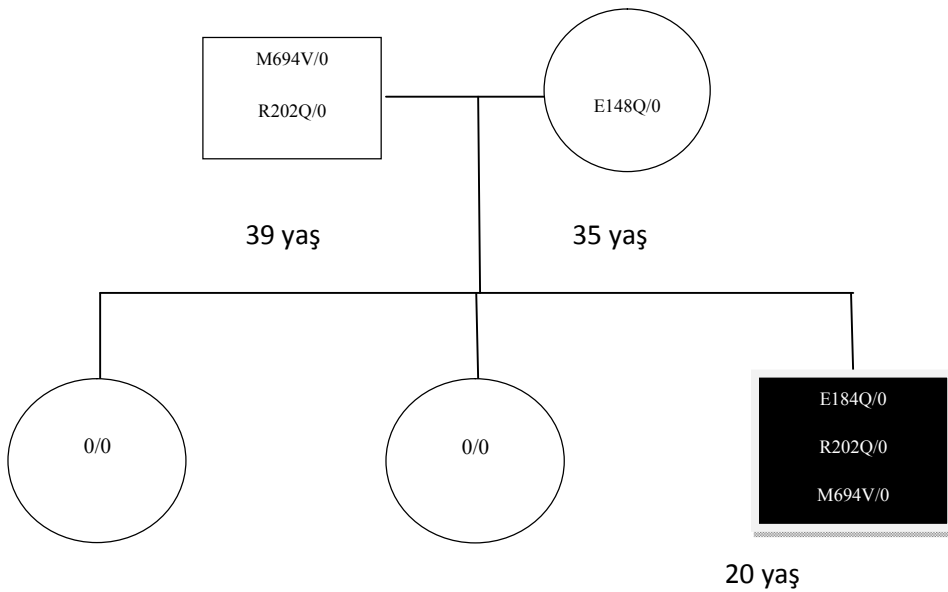


4. BULGULAR

Çalışmamızda 21 hasta ve 61 hasta yakınının MEFV gen taraması yapılmıştır. Her bir ailedeki bireylerin taşıdığı mutasyonları gösteren soyağaçları aşağıda tek tek gösterilmiştir. Tablo 4 de ise mutasyon tiplerine göre hastalarda görülen klinik özellikler gösterilmiştir.

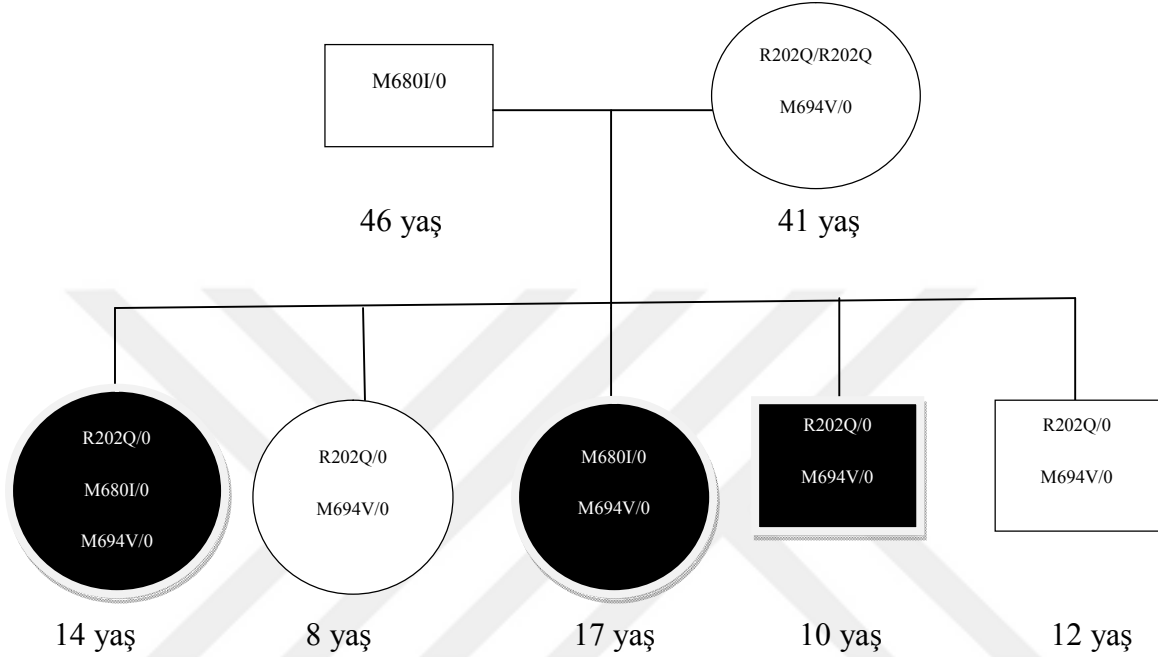


1 Nolu Aile



20 yaşındaki erkek hastada (CA) aile öyküsü bulunmaktadır ve hasta daha önce karın ağrısı nedeniyle apandisit ameliyatı geçirmiştir. Hasta ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir ve atak sırasında sadece karın ağrısı yaşamaktadır. Hastada Günde 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır.

2 Nolu Aile

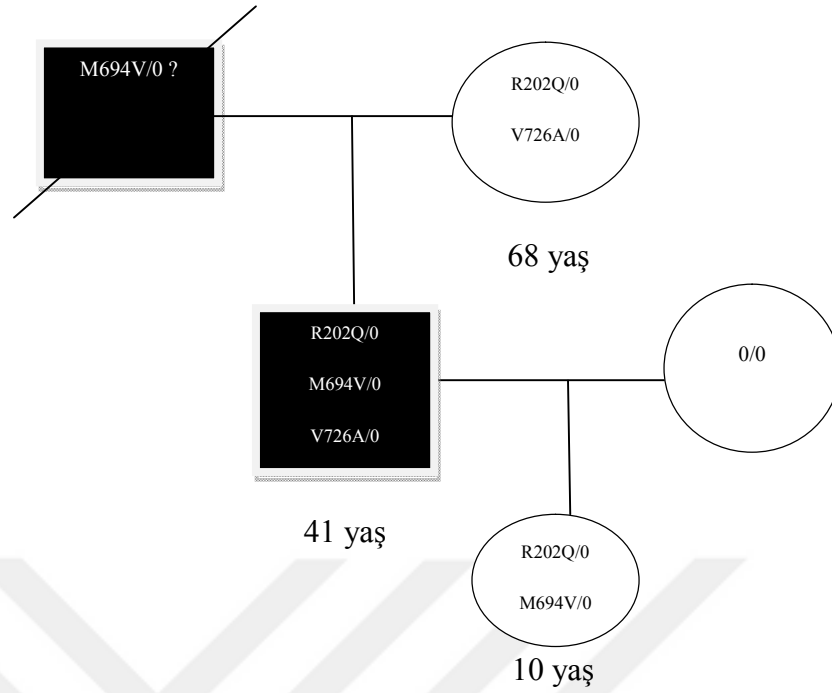


10 yaşındaki erkek hasta (MD), R202Q/0, M694V/0 mutasyonları taşımaktadır. Belirtilerin başlangıç yaşı 6-10 yaş arası, ayda 1-2 sayıda atak geçirmektedir ve atak sırasında sadece ateş ve karın ağrısı görülmektedir. Günde 1x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır.

14 yaşındaki bayan hasta (GD) R202Q/0, M694V/0, M680I/0 mutasyonlarını taşımaktadır. Ayda birden daha az sayıda geçirmektedir. Günde 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı ve erizipel benzeri eritem görülmektedir.

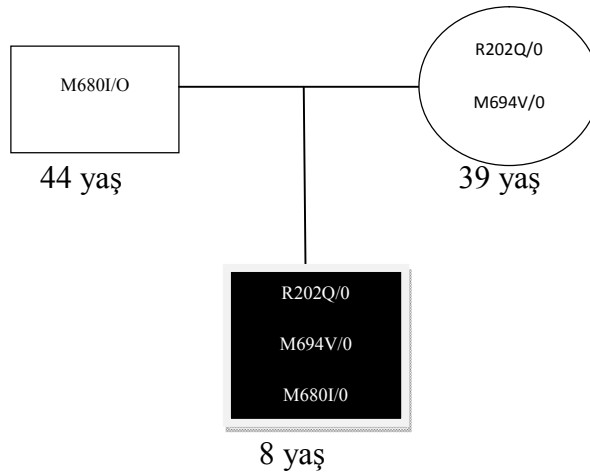
17 yaşındaki bayan hasta (GD) M694V/0, M680I/0 mutasyonlarını taşımaktadır. Ayda 1-2 sayıda atak geçirmektedir. Güde 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak sırasında ateş ve karın ağrısı görülmektedir.

3 Nolu Aile



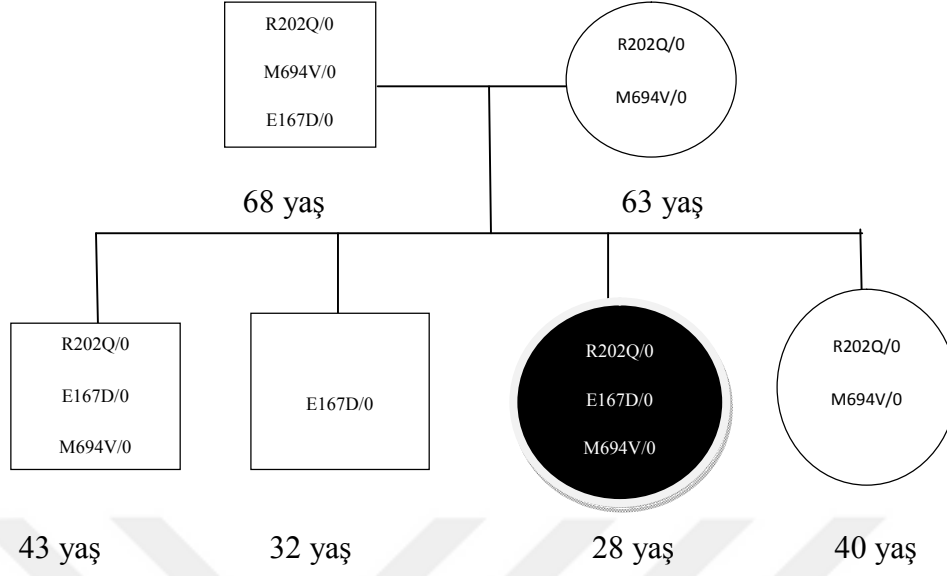
41 yaşındaki erkek hastada (MT) aile öyküsü bulunmaktadır ve hasta daha önce apandisit ameliyatı geçirmiştir. Hasta ayda 1'den daha az sayıda geçirmektedir. Hastada akut olarak artrit vardır. Günde 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı yaşamaktadır.

4 Nolu Aile



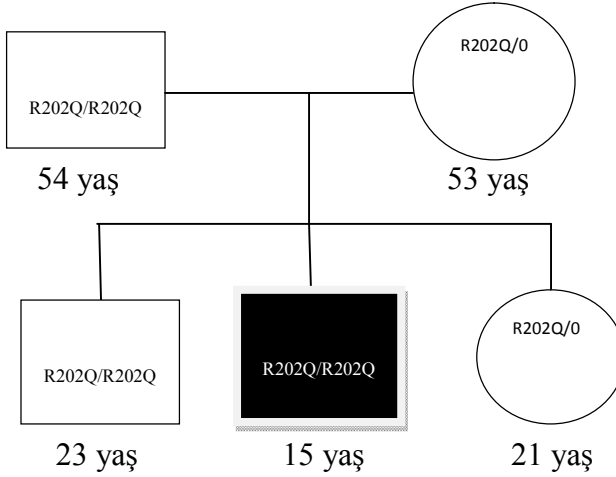
8 yaşındaki erkek hastada (CA) aile öyküsü bulunmamaktadır. Hasta ayda 2 den fazla atak geçirmektedir. Kronik olarak artrit ağrısı yaşamaktadır. Kolşisini 3x1 şeklinde kullanmaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı yaşamaktadır.

5 Nolu Aile



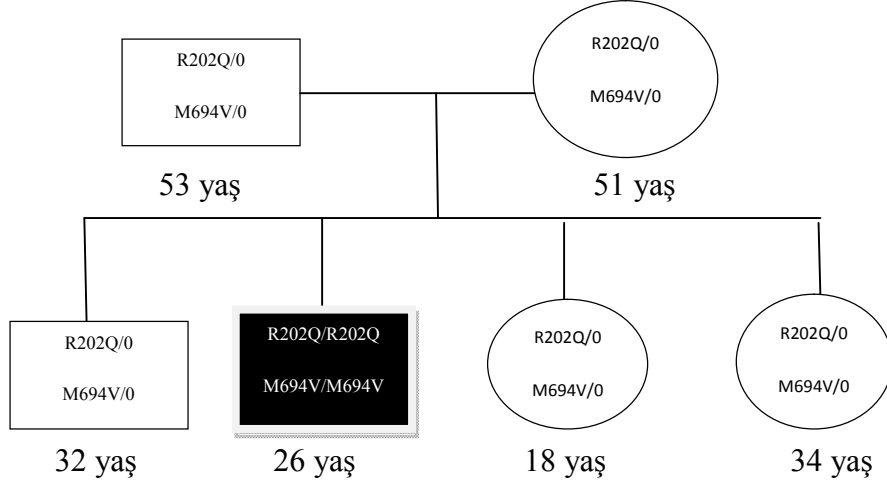
28 yaşındaki bayan hastada (AO) aile öyküsü bulunmaktadır ve hasta daha önce apandisit ameliyatı geçirmiştir. Hasta ayada birden daha az sayıda atak geçirmektedir. Vücudunda erizipel benzeri kızarıklıklar görülmektedir. Kolşisini günde 3x1 şeklinde kullanmaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı görülmektedir.

6 Nolu Aile



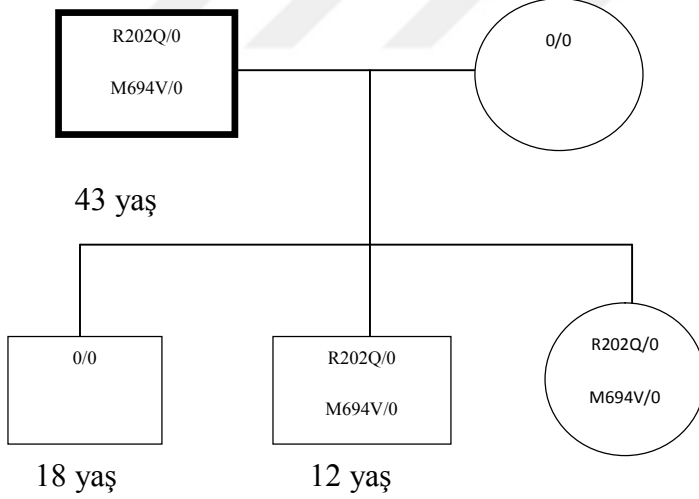
15 yaşındaki erkek hastada (ME) aile öyküsü bulunmaktadır fakat hastaya FMF teşhisi koyulmamıştır. Akut olarak artrit görülmektedir. Hastada ayda birden daha az sayıda ateş ve karın ağrısıyla, eklem ağrısı, göğüs ağrısı ve ara sıra erizipel benzeri görülmektedir.

7 Nolu Aile



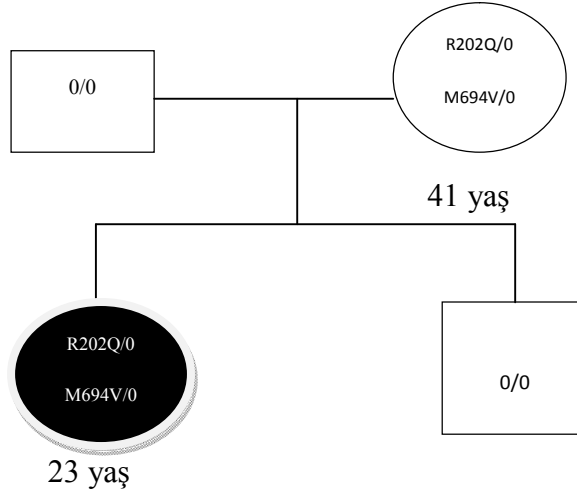
26 yaşındaki erkek hastada (AÇ) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir ve kolşisini günde 2x1 şeklinde kullanmaktadır. Atak sırasında ateş ve karın ağrısı yaşamaktadır.

8 Nolu Aile



42 yaşındaki erkek hastaya (ZÇ) FMF teşhisi koyulmamıştır. Hastada akut olarak artrit ve erizipel benzeri eritem görülmektedir. Kolşisin kullanmamaktadır. Hastada iki yıldır şikayet görülmemektedir.

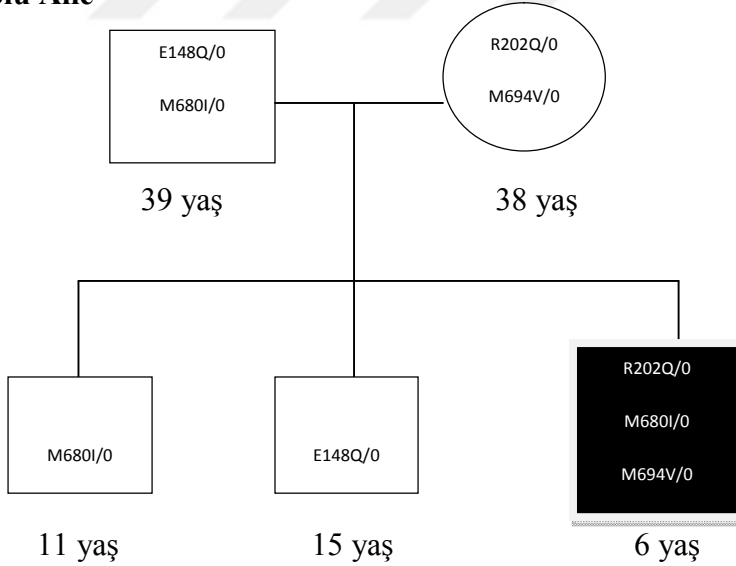
9 Nolu Aile



23 yaşındaki bayan hastada (SD) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta ayda 2 den fazla atak geçirmektedir. Kronik olarak artrit ve erizipel benzeri eritem görülmektedir. Günde 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak döneminde karın ağrısı, göğüs ağrısı ve eklem ağrısı yaşamaktadır.

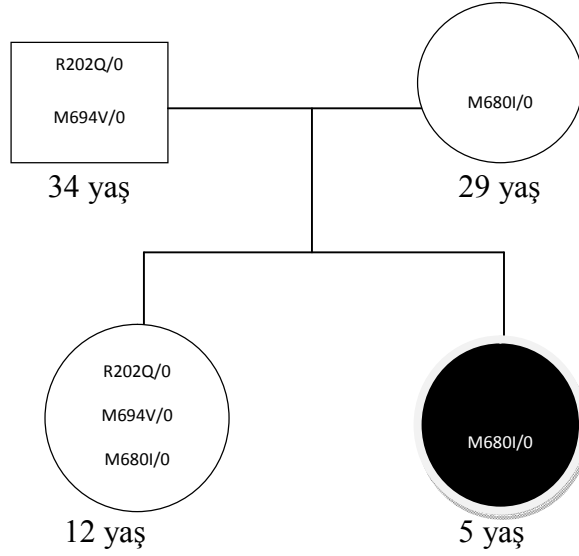
Anne (HD)'de ateş, karın ağrısı şikayetleri ara ara görülmektedir. Bu nedenle kişinin romatolojiye yönlendirilmesi yapılmıştır.

10 Nolu Aile



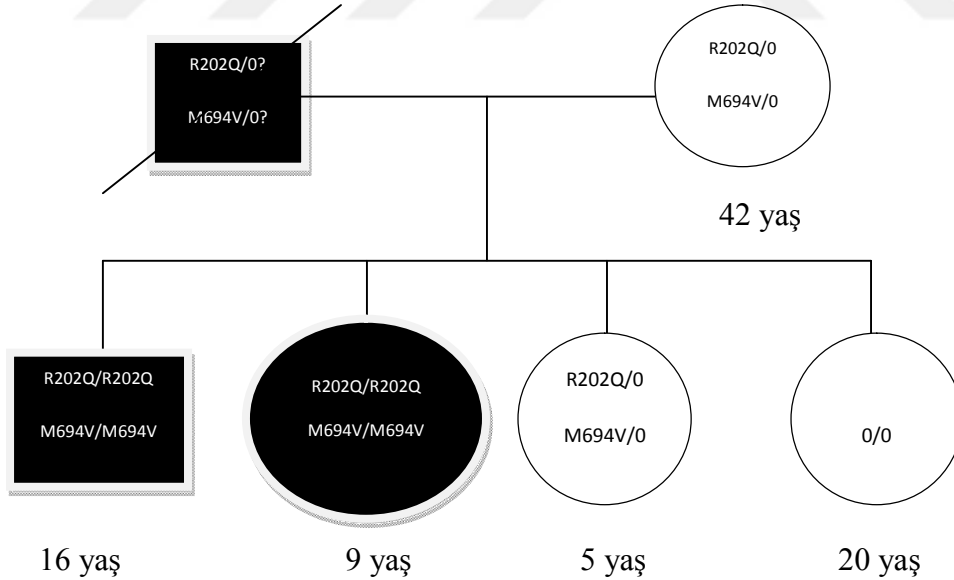
6 yaşındaki erkek hastada (ÖAS) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta 2x0.5 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Hasta ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir. Akut olarak artrit görülmektedir. Atak sırasında ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı yaşamaktadır.

11 Nolu Aile



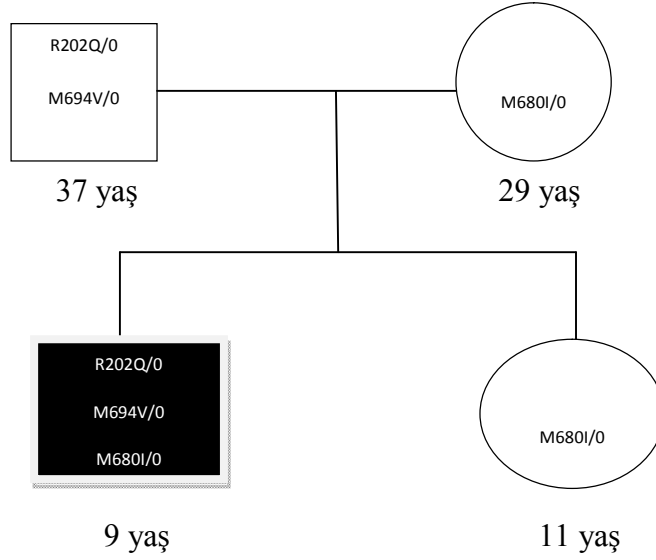
5 yaşındaki bayan hastada (SKK) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta ayda 2 den fazla atak geçirmektedir. Günde 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak döneminde ateş, karın ağrısı ve göğüs ağrısı yaşamaktadır.

12 Nolu Aile



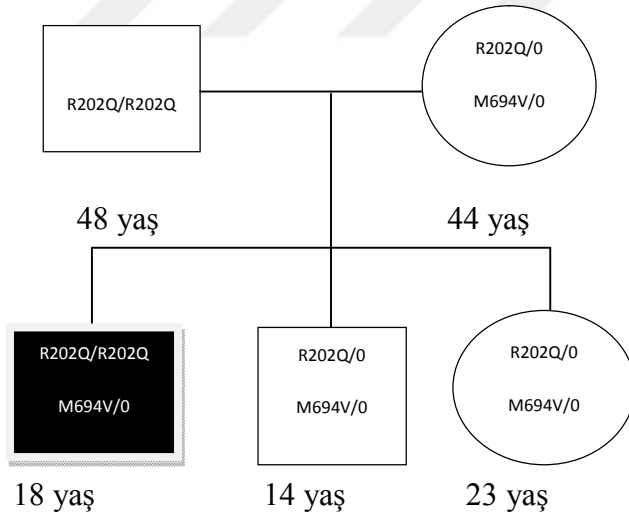
Hastalarda aile öyküsü bulunmaktadır. 9 yaşındaki bayan hastamız (EG) ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir. 16 yaşındaki erkek hastamız (SG) ayda 1-2 atak geçirmektedir. Hastalar 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Bayan hastamızda atak sırasında ateş, karın ağrısı ve göğüs ağrısı görülmektedir. Erkek hastamızda atak sırasında ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı ve eklem ağrısı görülmektedir.

13 Nolu Aile



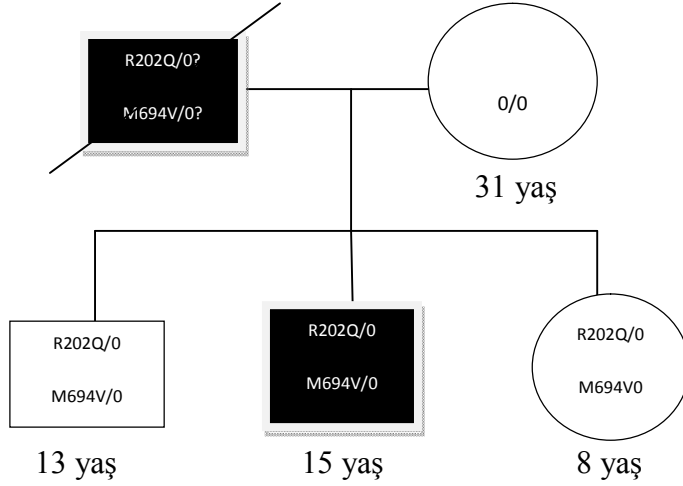
9 yaşındaki erkek hastada (EA) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta ayda 1-2 atak geçirmektedir. Akut olarak artrit görülmektedir. Günde 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı, eklem ağrısı ve erizipel benzeri eritem görülmektedir.

14 Nolu Aile



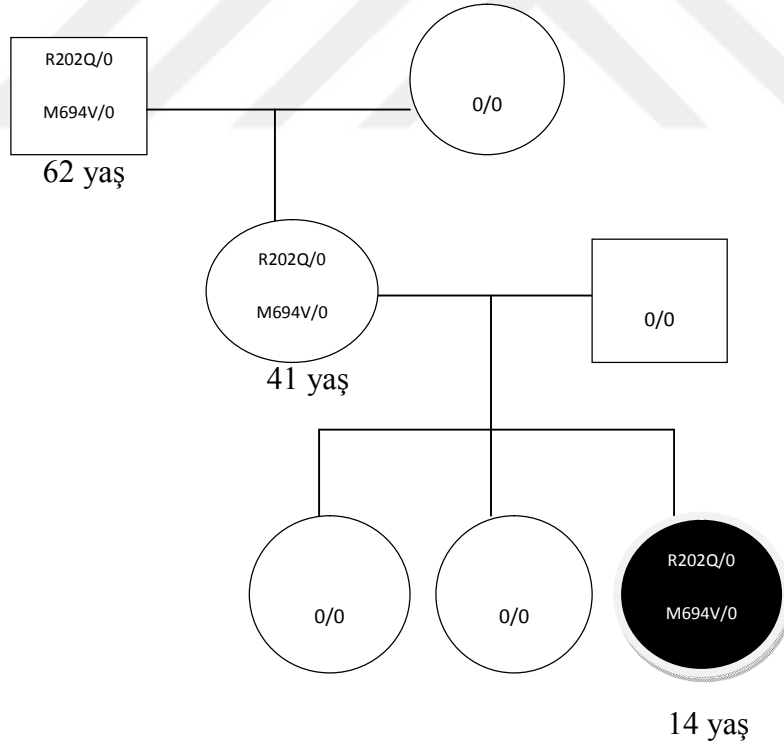
18 yaşındaki erkek hasta (EK) ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir. Hastada akut olarak artrit görülmektedir. Günde 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak döneminde ateş, karın ağrısı eklem ağrısı görülmektedir.

15 Nolu Aile



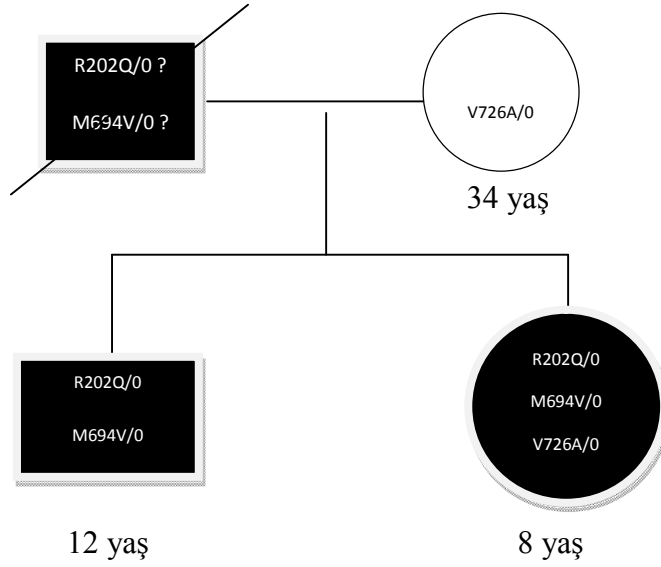
15 yaşındaki erkek hastada (HG) aile öyküsü bulunmaktadır. Hasta ayda 1-2 atak geçirmektedir. Hastada kronik olarak artrit ve erizipel benzeri eritem görülmektedir. Hasta kolşisin kullanmamaktadır. Atak sırasında ateş, karın ağrısı, eklem ağrısı ve erizipel benzeri eritem görülmektedir.

16 Nolu Aile



Hastada aile öyküsü bulunmaktadır. 14 yaşındaki bayan hasta (SÇ) ayda 2 den fazla atak geçirmektedir. Hastada akut olarak artrit ve erizipel benzeri eritem görülmektedir. günde 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Atak döneminde ateş, karın ağrısı, eklem ağrısı ve erizipel benzeri eritem görülmektedir.

17 Nolu Aile



Aile öyküsü bulunmaktadır. 12 yaşındaki erkek hasta (MK) ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir. Günde 2x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Hastada kronik olarak artrit görülmektedir. Atak sırasında ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı görülmektedir. 8 yaşındaki bayan hastamız (ZK) 3x1 şeklinde kolşisin kullanmaktadır. Hasta ayda birden daha az sayıda atak geçirmektedir. Hastada eklem ağrısı, kızarıklık, ateş ve karın ağrısı görülmektedir.

Anne (HK) ya FMF teşhisi koyulmamıştır fakat kişide eklem ağrısı ve karın ağrısı görülmektedir. Kişi romatolojiye yönlendirilmiştir.

Tablo 4.1: Mutasyon tiplerine göre hastalarda görülen klinik özellikler

Mutasyon Tipleri Sayı ve Yüzdeleri	Klinik Belirtiler				
	ATEŞ	KARIN AĞRISI	GÖĞÜS AĞRISI	EKLEM AĞRISI	ERİZİPEL BENZERİ ERİTEM
R202Q/R202Q Homozigot Mutasyonu	1 (%100)	1 (%100)	1(%100)	1 (%100)	1 (%100)
R202Q/M694V/E148Q Heterozigot mutasyonu		1(%100)			
R202Q/M694V/M680I	4(%100)	4(%100)	2(%50)	3(%75)	2(%50)

Heterozigot mutasyonu					
R202Q/M694V/V276A Heterozigot Mutasyonu	2(%100)	2(%100)		1(%50)	1(%50)
R202Q/M694V/E167D Heterozigot Mutasyonu	1(%100)	1(%100)		1(%100)	1(%100)
R202Q/M694V Heterozigot mutasyonu	4(%66,6)	5(%83,3)	1(%16,6)	5(%83,3)	3(%50)
R202Q/R202Q/M694V/M694V Homozigot Mutasyonu	3(%100)	3(%100)	2(%66,6)	1(%33,3)	
M694V/M680I Heterozigot Mutasyonu	1(%100)	1(%100)			
M680I Heterozigot Mutasyonu	1(%100)	1(%100)	1(%100)		
R202Q/R202Q/M694V Mutasyonu	1(%100)	1(%100)		1(%100)	

5.TARTIŞMA

FMF'in oldukça eski zamanlardan beri görüldüğü Galen'in 2.yüzyıldaki ateş ve karın ağrısı klinik belirtilerinin belirli zamanlarda olduğunu belirten yazıtlarda görülmüştür. Bundan uzun bir zaman sonra İbni Sina'nın 12.yüzyılda eklem ağrısı ve gut hastalığında kolşisin bitkisini kullanarak tedavi ettiği bildirilmiştir. Kolşisin bitkisi 1820 yılında Pierre-Joseph Pelletier ve Joseph Bienaime Caventou tarafından sentez edilmiş ancak 1972 yılında FMF tedavisi için kullanılmaya başlanmıştır (32). Fenotipik belirtileri sıklıkla ateş, karın ağrısı olmakla birlikte göğüs ağrısı, eklem ağrısı, erizipel benzeri döküntüler de görülmektedir (2). Ülkemizde FMF üzerine oldukça sık çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Başlangıçta en sık klinik belirti verdiği belirlenen mutasyonlar taranmış buna göre fenotip genotip ilişkisi irdelenmeye çalışılmıştır (45). Son yıllarda sekans analiz yöntemlerinin yeni mutasyonların ortaya çıkmasına ve bu yeni mutasyonlarla klinik belirtilerle ilişkisinin var olup olmadığı ortaya konmaya çalışılmıştır. Burada R202Q mutasyonunun klinik öneminin varlığının ortaya koması gerekliliğine inanılmaktadır. Aslında bir polimorfizm gibi görünmekle birlikte bazı mutasyonlarla birlikte bulunduğu klinik belirtilerin artmasına neden olduğu şeklinde bazı çalışmalar bulunmaktadır. Ancak herhangi bir yakınması olmayan sağlıklı 50 yetişkin bireyde yaptığımız çalışmada % 34 heterozigot taşıyıcılık, % 2 ise homozigot olguya rastlanmıştır. Bu yüksek taşıyıcılık oranının bulunması polimorfizm olduğu yönünde inancı kuvvetlendirmekle birlikte yaptığımız bu çalışmada bir olguda homozigot R202Q mutasyonu sonucu klinik belirtilere sahip olduğu izlenmiştir. Dolayısıyla R202Q mutasyonu ne zaman hangi durumlarda klinik belirtilere yol açmaktadır kesin olarak bilemiyoruz veya bizim taramış olduğumuz ekzon 2 ve 10 dışındaki başka ekzonlarda klinik belirti verebilen bir mutasyonun varlığı hakkında da gerekli araştırma yapılmamış olup bunu da bilmemekteyiz. Bu çalışmada R202Q nun M694V ile birleşik olarak bulunduğu olgular ağırlıkta idi ve klinik belirtilere bakıldığında en sık olarak karın ağrısı sonrasında da ateş görülmekteydi. Yapılan diğer çalışmalarda da bizim çalışmamızdakine benzer sonuçların alındığı görülmektedir. Bunu yanı sıra E148Q, M680I, V726A mutasyonları da sık bir şekilde kombine olarak R202Q ile birlikte görülmektedir. Bu olguların klinik belirtilerinin diğer kombine mutasyonlardan çok farklılık göstermediği izlenmiştir. Göğüs ağrısının sıklıkla M694V mutasyon tipinde görüldüğü dikkat çekmektedir. Çalışmamızda 17 ailede tarama yapılmıştır. Bu taramalarda oldukça ilginç sonuçlara da rastlanmıştır. 5 nolu ailemizdeki kız çocuklarının birinde R202Q+M694V+E167D heterozigot mutasyonları tespit edilmiş olup FMF klinik belirtileri

göstermekte ve tıbbi tedavi almaktadır. Bu nedenle geçmiş zamanda karın ağrısı nedeniyle yanlış tanı alarak apandisit operasyonu geçirmiştir. Diğer kız kardeşinde de R202Q + M694V heterozigot mutasyonları mevcut olup ilginç şekilde klinik belirtiyeye sahip olmayıp FMF tanısı da almamıştır. Bir başka ailede aynı mutasyon tiplerine sahip başka bir taşıyıcı hasta olarak nitelendirildiği ve tıbbi tedaviye alındığı izlenmektedir. Bu farklılığın klinik yaklaşımın değişikliğinden kaynaklı olabileceği düşünülebileceğinin yanı sıra etkilenen genin penetransı önemli etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Burada tam penetransdan kast ettiğimiz o mutasyon tipinin hastalığın klinik belirti verme durumunu yansıttığıdır (62). Çok ilginç olarak bir başka ailede R202Q + M694V heterozigot mutasyonlarına sahip olan babanın hasta olarak takibe alınırken aynı mutasyonlara sahip oğlu klinik açıdan hasta olarak tanımlanmamıştır veya bunun tersi olan durumlar da görülmektedir. Mutant genin etkisinin ne durumlarda ve yaşamın hangi safhasında görülebileceği hakkında kesin bilgilere halen sahip değiliz. Bu mutant gen hangi durumlarda klinik olarak belirti vermekte ve bunun etkisinin ne zaman ortaya çıkacağı hakkında yapılan çalışmalar da göstermektedir ki; gen ekspresyonundaki değişiklikler, epigenetik değişiklikler, çevresel faktörler, allel sayısı, yaş faktörü, diğer genetik faktörlerin, diğer otoinflamatuvar hastalıkların varlığı veya diğer hastalıklar klinik belirtilerin ortaya çıkmasında belirleyici etkenler olarak görülebileceği belirtilmektedir (62). FMF tanısının klinik olarak konduğunu bilmekle beraber aynı mutasyona sahip olguların bazılarında belirtilerin görülebildiği halde bazılarında görülmemesinin bahsedilen bu faktörlerin etkisine bağlı olarak gerçekleştiği düşünülebilir. Bu etkenler göz önünde tutulduğu zaman aile taramasında elde ettiğimiz sonuçlar aynı mutasyonu taşıyan aile bireylerinden bazılarında önceden bahsedilen kriterlere göre klinik tanı konabildiği halde bazılarında konamamasının o genin yüksek veya düşük penetrans göstermesi ile ilgili olabileceği kanısına varılmıştır. Bu araştırmada değişik faktörlerinde araştırılması ile konunun ayrıntılı irdelenmesi gerektiği inancına sahip olunmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hastalığın en hafif formu R202Q/M694V/E148Q mutasyonlarını heterozigot olarak taşıyan bireylerde görülmektedir. 1 nolu ailemizdeki hasta CA atak sırasında sadece karın ağrısı yaşamaktadır.

Hastalığın en ağır klinik belirtilerinin görüldüğü form ise 12 nolu ailedeki bireylerde görülmektedir. Bu ailede bulunan iki kardeşte R202Q/R202Q, M694V/M694V homozigot mutasyonlarını taşımaktadır. Bu ailedeki bayan hastamızda ateş, karın ağrısı ve göğüs ağrısı görülürken erkek hastamızda bu klinik belirtilere ilave olarak eklem ağrısı da görülmektedir.

2. olarak ağır klinik belirti gösteren hastamız 6 nolu ailedeki ME'dir. R202Q/R202Q mutasyonunu homozigot olarak taşıyan bireyde hastalığın tüm klinik belirtileri görülmesine rağmen ilginçtir ki FMF teşhisi koyulmamıştır.

2 nolu, 13 nolu ve 17 nolu aile bireylerinde M694V/R202Q heterozigot mutasyonlarına ilave olarak M680I, E167D ve V276A mutasyonlarını ilave olarak taşıyan bireylerde yine fazla klinik belirti görülmektedir.

Çalışmamızda ayrıca dikkatimizi çeken bir noktada şudur ki; R202Q/M694V heterozigot mutasyonlarını ve R202Q/M694V/M680I heterozigot mutasyonlarını taşıyan bireylerde teşhis yaşı ya $6 >$ veya 6-10 yaş arasındadır. Yani bu mutasyonları taşıyan bireylerde belirtiler daha erken gözlenmiştir ve bu nedenle teşhis yaşı bu nedenle daha küçüktür.

Sadece M694V/M680I ve M680I mutasyonlarını taşıyan hastalarda eklem ağrısı ve erizipel benzeri eritem görülmediğini tespit ettik.

Çalışmamızda erizipel benzeri eritem görülen hastaların neredeyse tamamında eklem ağrısının da görüldüğünü gözlemledik. Buda erizipel benzeri eritemin eklem ağrısına şiddetine bağlı olarak gözlenebileceğini göstermektedir.

Ayrıca erkeklerin bayanlardan daha çok eklem ağrısı yaşadığını görmekteyiz. Bu da eklem ağrısının fiziksel aktivitenin arttığı durumlarda gözlenebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda toplamda 10 erkekte eklem ağrısı görülürken bayanların sadece 4'ünde eklem ağrısı görülmektedir. Yine toplamda erizipel benzeri eritem 5 erkekte görülmesine karşın sadece 2 bayanda görülmektedir.

Tablo 6.1: Erkek ve bayanlarda görülen eklem ağrısı ve erizipel ve benzeri eritem

MUTASYONLAR	EKLEM AĞRISI		ERİZİPEL BENZERİ ERİTEM	
	BAYAN	ERKEK	BAYAN	ERKEK
R202Q Homozigot		1		1
R202Q/M694V/M680I Heterozigot		2		2
R202Q/M694V/V276A Heterozigot	1	2	1	
R202Q/M694V/E167D Heterozigot	1			
R202Q/M694V Heterozigot	2	3	1	2
R202Q/M694V Homozigot		1		
R202Q/R202Q/M694V		1		
TOPLAM	4	10	2	5

Yapılan bu aile taramalarında polimorfizm olarak görülen R202Q mutasyonunun diğer mutasyonlarla bir araya geldiği zaman hastalığın belirtilerini güçlendirdiği şeklindeki düşüncelerimizin hala muğlak olduğu R202Q homozigot bir olguda ise klinik belirtilerin bulunması ve tıbbi tedaviye alınması bizim taradığımız ekzonlar dışında başka ekzonlardan kaynaklı bir mutasyonun olup olmadığı hala soru işareti olarak görünmektedir. Bu çalışmada hemen tüm ailelerde aynı mutasyonları taşıdıkları halde kimisi hasta olarak tanımlanarak tıbbi tedaviye alınmış kimisi de klinik belirti vermeyerek FMF tanısı almamıştır. Buda FMF'in ortaya çıkmasında çevresel faktörlerin, stresin, beslenmenin, yaşanan bir travmanın veya kişide bulunan başka bir hastalığın en az genetik faktörler kadar önemli olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak FMF klinik belirtilerinin ortaya çıkmasında değişik faktörlerin olabileceği ve bunların üzerinde araştırma yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Ozturk C, Halıcıoğlu O, Coker I, Gulez N, Sutçuoğlu S, Karaca N, ve ark. 2012. Association of clinical and genetical features in FMF with focus on MEFV strip assay sensitivity in 452 children from western Anatolia, Turkey. *Clin Rheumatology*, 31: 493-501.
2. Farivar S, Shiari R, Hadi E, 2010. Molecular analysis of MEFV gene in Iranian children with Familial Mediterranean fever. *Indian Journal of Rheumatology*, 25: 66-68.
3. Turkish FMF Study Group. 2005. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey Result of a Nationwide Multicenter Study. *Medicine*, 84: 1-11.
4. Erden G, Bal C, Torun Güngör O, Uğuz N, Yıldırım kaya M. 2008. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları Sıklığının İncelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65(1): 1-5.
5. Akar N, M. Mısıroğlu, et al. 2000. "MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean Fever." *Hum Mutat* 15(1): 118-9.
6. Infevers. 2017. <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/searc.php11>
7. Goldfinger S.E, 1972. Colchicine for familial Mediterranean fever: *N. Engl J Med* 287:1302
8. Kastner D.L, Aksentijevich I, Gruberg L, Balow J, Dean M, Hampsch K, ve ark. 1991. Familial Mediterranean fever: a 90 markers exclusion map and evidence for linkage to chromosome 17. *Cytogenet Cell Genet*, 58: 2115
9. Janeway T.C, Rosenthal. H.O. 1998. Anusual paroxymal syndrome, probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism: *Trans Assoc Am Pyhys* 23:504-18

10. Siegal S, 1945. Benign paroxymal peritonitis: *Ann Intern Med* 23:1-21
11. Sohar E, J. Gafni, et al. (1967). "Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature." *Am J Med* 43(2): 227-53.
12. The International FMF Consortium. 1997. Ancient Missense Mutations in a New Member of the RoRet Gene Family Are Likely to Cause Familial Mediterranean Fever. *Cell*, 90: 797–807.
13. The French FMF Consortium. 1996. The localisation of the familial Mediterranean Fever gene to a 250 kb interval in non-Ashkenazi Jewish founder haplotypes. *Am J Hum Genet*, 59: 603- 612.
14. Daniels M, T Shohat, et al. (1995). "Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non-Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel." *Am J Med Genet* 55(3): 311-4.
15. Özen, S, Y Karaaslan, et al. (1998). "Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study." *J Rheumatol* 25(12): 2445-9.
16. Tunca M, Ataca P, Ailevi Akdeniz ateşi hastalığında son 10 yıl ve Türk araştırmacıların katkısı: Saptamalar ve öneriler. 2013. *RAED Dergisi*, 5(1): 25- 28.
17. Chen X, Fishel-Ghodsian N, Hamon M, (1998). Assessment of pyrin gene mutations in Turks with familial Mediterranean fever. *Hum. Mutat.*11: 456-460
18. Cattan D, Delpech M, Fievre mediterraneenne familiale (maladie periodique): *Hepato-Gastro* 1996;3:369-76.
19. Ben-Chetrit E, Levy M, (1998). Familial Mediterranean fever. *Lancet*, 1998; 351: 659-664.

20. Mimouni A, Magal N, Stoffman N, shohat, T., Minasian, A., Krasnov, M., Halpern, JG., Rotter IJ, Fischer-Ghondsian N, Danon, LY, Shohat, M, (2000). Familial Mediterranean Fever: Effect of Genotype and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis. *Pediatrics*, 105 (5) p.e 70
21. Tekin M, Yalçınkaya F, Çakar N, et al. MEFV mutations in multiplex families with familial Mediterranean fever: is a particular genotype necessary for amyloidosis? *Clin Genet* 2000;57:430-434.
22. Mansour I, Delague V, Cazeneuve C, et al. Familial Mediterranean Fever in Lebanon: mutation spectrum, evidence for cases in Maronites, Grek orthodoxes, Greek catholics, Syriacs and Chiites and for an association between amyloidosis and M694V and M694I mutations. *Eur J Hum Genet* 2001;9:51-5.
23. Balcı B, K. Tınaztepe et al. (2002). "MEFV gene mutations in familial Mediterranean fever phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood: a retrospective clinicopathological and molecular study." *Nephrol Dial Transplant* 17(11): 1921-3.
24. Doğanavşargil E, Keser G. Ailesel Akdeniz Ateşi.Klinik Romatoloji Ege Romatoloji 1999 sayfa:467-473
25. Bernot A, C. da Silva, et al. (1998). "Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF)." *Hum Mol Genet* 7(8): 1317-25
26. Hoffma Hal M, Frenkel J, Kuijk, Loes M. 2005. Periodic Fever Disorders. *Reumatologia*, 21(3): 96-100.
27. Samuels J, I. Aksentijevich, et al. (1998). "Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health." *Medicine (Baltimore)* 77(4): 268-97.
28. Tunca M, Akar S, Önen F, et al; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine* 2005;84:1-11.

29. Yalçinkaya F, Özkaya N, Turner N, et al. Protracted arthritis of Familial Mediterranean fever (an unusual complication). *Br J Rheumatol* 1997;36:1228-30.
30. Fietta P, 2004. Autoinflammatory diseases: the Hereditary periodic fever syndromes: *Acta Bio. Medica. Ateneo Parmense*.75; 92-99.
30. Erdoğan Ö, Öner A, 2002. Ailevi Akdeniz ateşi: *T.Klin Pediatri* 11:160-170
31. Bakkaloğlu A. 2003. Familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol*, 18: 853-859.
32. Zemer D, Revach M, Pras M. et al. (1974). A controlled trial of colchicine in preventing attacks of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 291:932– 44.
33. Samli H, Dogru O, Bukulmez A, Yuksel E, Ovali F, Solak M. 2006. Relationship of Tel Hashomer criteria and Mediterranean fever gene mutations in a cohort of Turkish familial Mediterranean fever patients. *Saudi Med J* 27(12): 1822-1826.
34. Sağlam C, Polat A, Jones O, Demirkaya E. 2013. Recent advances in the management of children with familial Mediterranean fever. *Int. J. Clin. Rheumatol*, 8(2): 233-245.
35. Centola M, G Wood, et al. (2000). "The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators." *Blood* 95(10): 3223-31.
36. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, Balow J.E, Prosen L, Dean M, ve ark. (1992). Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Eng J Med*, 326:1509- 513.
37. Zemer D, Livneh A, Langevitz P. Reversal of the nephrotic syndrome by colchicine in amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Ann Intern Med*. 1992 Mar 1;116(5):426
38. Lidar M, Livneh, A. 2007. Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *The journal of medicine*, 65(9): 318-324.

39. Önen F. Ailevi Akdeniz Ateşi Artriti. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri İmmunoloji Romatoloji Ailevi Akdeniz Ateşi Özel Sayısı, 2006; 8:21-26
40. Roldan R, Ruiz AM, Miranda MD, Collantes E. Anakinra: new therapeutic approach in children with Familial Mediterranean Fever resistant to colchicine. Joint Bone Spine. 2008 Jul;75(4):504-5.
41. Baykal Y, Sağlam K, Yılmaz I, Taşlıpınar A, Akıncı S.B, İnal A. Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF- α level in Familial Mediterranean Fever patients. Clin Rheumatol 2003;22:99-101.
42. Korkmaz C, Özdoğan H, Kasapçopur Ö, Yazıcı H. Acute phase response in Familial Mediterranean Fever. Ann Rheum Dis 2002;61:79-81.
43. Düzova A, Özen S. Ailevi Akdeniz Ateşinin Kliniği ve Tanısı. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri İmmunoloji Romatoloji Ailevi Akdeniz Ateşi Özel sayısı, 2006;8:12-20.
44. Erden G, Bal C, Torun Güngör O, Uğuz N, Yıldırım kaya M M. 2008. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları Sıklığının İncelenmesi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 65(1): 1-5.
45. Cazeneuve C, Sarkisian T, Pêcheux C, Dervichian M, Ne'elec B, Reinert,ü P, ve ark. 1999. MEFV-Gene Analysis in Armenian Patients with Familial Mediterranean Fever: Diagnostic Value and Unfavorable Renal Prognosis of the M694V Homozygous Genotype— Genetic and Therapeutic Implications. Am. J. Hum. Genet., 65:88–97.
46. Touitou I, 2001. The spectrum of familial Mediterranean (FMF) mutations: European Journal of Human Genetics 9:473-483.
47. Dodé C, Pêcheux C, Cazeneuve C, Cattan D, Dervichian M, Goossens Delpech, ve ark. 2000. Mutations in the MEFV Gene in a Large Series of Patients With a Clinical Diagnosis of Familial Mediterranean Fever. American Journal of Medical Genetics, 92:241–246.

48. Samuels J, I. Aksentijevich, et al. (1998). "Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health." *Medicine (Baltimore)* 77(4): 268-97
49. Brik R, Shinawi M, Kepten I, et al. Familial Mediterranean Fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics* 1999;103:e70.
50. Centola M, Aksentijevich I, Kastner DL, The hereditary periodic fever syndromes: Molecular analysis of a new family of inflammatory diseases. *Hum Mol Genet* 1998;7:1581-8.
51. Ehrlich GE, Genetics of Familial Mediterranean Fever and its implications. *Ann Intern Med* 1998;129:581-2.
52. Stoffman N, Magal N, Shohat T, et al. Higher than expected carrier rates for Familial Mediterranean Fever in various Jewish ethnic groups. *Eur J Hum Genet* 2000;8:307-10.
53. Akar N, M. Mısıroglu, et al. (2000). "MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean Fever." *Hum Mutat* 15(1): 118-9.
56. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, Migdal A, ve ark. 1997. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis&Rheumatism*, 40(10): 1879-1885.
57. Aksentijevich I, Gruberg L, Pras E, Balow JE Jr, Kovo M, Gazit E, ve ark. Evidence for linkage of the gene causing familial Mediterranean fever to chromosome 17q in non-Ashkenazi Jewish families: second locus or type I error? *Hum Genet*. 1993 Jul;91(6):527-34.
58. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, Centola M, Deng Z, SoodR, ve ark. L.Reviews.Familial Mediterranean Fever at the Miilennium CklinicalSpectrum,Ancient Mutations and a Survey of 100 American Referrals tothe National Institutes of Health.*Medicine* 1998;77:268-97.

59. Yalçinkaya F, Akar N, Mısırlıoğlu M. 1998. Familial Mediterranean Fever – Amyloidosis and the Val726Ala Mutation. *The New England Journal of Medicine*, 338 (14): 993-994.
60. Yalçinkaya F, Tekin M, Çakar N, Akar E, Akar N, Tümer N. 2000. Familial Mediterranean fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients. *Q J Med*, 93: 681-684.
61. Yılmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, ve ark. 2001. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *European Journal of Human Genetics*, 9: 553-555.
62. Shawky RM. Reduced penetrance in human inherited diseases, 2014. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 15,103-111.

8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. FMF’de klinik bulgular	4
Şekil 2.2. MEFV geninin 16. kromozomdaki lokalizasyonu	11
Şekil 2.3. MEFV genindeki mutasyonlar	14



9. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. DNA PCR protokolü	16
Tablo 3.2. DNA PCR aşamaları	17
Tablo 3.3. Döngü sekans PCR aşamaları	18
Tablo 4.1. Mutasyon tiplerine göre hastalarda görülen klinik özellikler	29
Tablo 6.1 Erkek ve bayanlarda görülen eklem ağrısı ve erizipel ve benzeri eritem	34



10. DİZİ DİZİNİ

Sayfa No

Dizi 2. 1. MEFV geninin cDNA dizisi

13



11. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Gülşah İşler
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 11.11.1989 Kahramanmaraş
Medeni hali : Evli
Telefon : 0554 276 60 24
e-posta : gulsahkaynar@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ankara Üniversitesi/Eczacılık Bölümü	2013
Lise	Kahramanmaraş Çukurova Elektrik Anadolu Lisesi	2008

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
2014-	Gülşah Eczanesi	Sahibi ve Mesul Müdürü

Yabancı Dil

İngilizce