

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ'TA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ
HASTALARINDA MEFV MUTASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI

TEZ YÖNETİCİSİ
DOÇ. DR. METİN KILINÇ

DR. SEÇİL ŞİMŞEK İMREK
UZMANLIK TEZİ
KAHRAMANMARAŞ/2008

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca her tŸrlŸ bilgi ve tecrŸbelerinden yararlandđđım, tezimin her aŐamasında yardımlarını esirgemeyen klinik Őefimiz Doç. Dr. Metin KILINÇ'a,

Tez çalıŐmalarım sırasındaki teknik bilgi ve tecrŸbelerini paylaŐđđım, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Nihal BUZKAN'a,

Eğitimim sırasındaki ilgi ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Doç.Dr. Fatma İNANÇ TOLUN ve Öđ. Gör. Dr.ErgŸl BELGE KURUTAŐ ile çalışma arkadaŐlarım Uz. Dr.İsmail TORU, ArŐ. Gör. Dr.Fidan BİLGE ve ArŐ. Gör. Dr.Yalçın ATLI'ya, laboratuvarıda çalıŐan tŸm personelimize,

Tezime eleŐtiri ve önerilerileri ile katkı sağlayan İç Hastalalıkları AD /Romatoloji BD ōđretim Ÿyesi Sayın Doç.Dr.Mehmet SAYARLIOğLU'na,

Her zaman yanımda olan ve her konuda beni destekleyen eŐim Dr. Esef İMREK ve biricik oğlum Efe'ye

TEŞEKKÜR EDERİM.

KISALTMALAR

FMF: Familial Mediterranean Fever

AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR-RFLP: Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism

MEFV: Mediterranean Fever

CRP: C-Reaktif Protein

PAN: Poliarteritis Nodosa

HSP: Henoch-Schönlein Purpurası

TNF: Tümör Nekroz Faktör

IL: Interlökin

SICAM: Soluble Intercellular Adhesion Molecules

NSAİ: Non-steroid antiinflatuar

SAA: Serum Amiloid A

ELE: Erizipel benzeri eritem

dNTP: Deoksiniükleotid trifosfat

EtBr: Etidyum Bromid

RE: Restriksiyon Endonükleaz

TAE: Tris asetik asit-EDTA

TBE: Tris borik asit-EDTA

A: Adenin

G: Guanin

C: Sitozin

T: Timin

E: Glutamik asit

Q: Glutamin

A: Alanin

V: Valin

M: Metiyonin

I: İzolösin

P: Prolin

S: Serin

F: Fenilalanin

L: Lösin

T: Treonin

K: Lizin

R: Arginin

H: Histidin

İÇİNDEKİLER:

Teşekkür.....	II
Kısaltmalar.....	III
İçindekiler.....	V
Tablo Listesi.....	VI
Şekil Listesi.....	VII
Özet.....	VIII
Abstract.....	IX
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
Ailevi Akdeniz Ateşi.....	2
Genetik Geçiş.....	2
FMF'in Patogenezi.....	5
Klinik Özellikler.....	10
Nadir Görülen Semptomlar.....	14
Ataklar Arası Dönemler.....	14
FMF ve Amiloidoz.....	15
Laboratuvar Bulguları.....	17
Tanı.....	17
Tedavi	21
FMF GENİ: MEFV.....	22
GENETİK TANI.....	25
MATERYAL VE METOD.....	29
BULGULAR.....	31
TARTIŞMA.....	37
REFERANSLAR.....	41

TABLO LİSTESİ:

Tablo I: Etnik kökenlere göre MEFV mutasyonlarının dağılımı	4
Tablo II: FMF'in genetik tanısına güncel yaklaşım	18
Tablo III: Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı	31
Tablo IV: Hastaların klinik özellikleri	32
Tablo V: MEFV mutasyonlarının dağılımı	32
Tablo VI: Mutasyonların cinsiyetlere göre dağılımı	33

ŞEKİL LİSTESİ:

Şekil 1: FMF'in patofizyolojisi	8
Şekil 2: FMF hastalığında görülen belirti ve bulgular	9
Şekil 3: Pirin Proteini	24
Şekil 4: M694V mutasyonunun agar jel görüntüsü	34
Şekil 5: M680I mutasyonunun agar jel görüntüsü	35
Şekil 6: V726A mutasyonunun agar jel görüntüsü	36

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA); otozomal resesif geçiş gösteren bir inflamatuvar hastalık olup seröz membranların tekrarlayıcı tutulumu ile karakterizedir. Doğu Akdeniz kökenli toplumlarda sık görülmektedir. Hastalığa belirli dönemlerde ateş ile birlikte karın, eklem, göğüs ağrısı ve erizipel benzeri döküntü eşlik eder.

Bu çalışmada, Tel-Hashomer kriterlerine göre FMF tanısı konmuş olan 47 hastada (27 Erkek/20 Kadın) FMF mutasyonlarından ekson 10'da en sık görülen (M694V, V726A ve M680I) 3 MEFV gen mutasyon tipleri incelendi. Klinik olarak FMF tanısı konulmuş hastalardan tam kan örnekleri alındı ve lökositlerden DNA izolasyonu yapıldı. İzole DNA örneklerine PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi uygulandı. Sonrasında jel elektroforezi yapılarak FMF ile ilişkili nokta mutasyonlarının bu gruptaki sıklığı belirlendi. Sonuç olarak toplam FMF'li 47 kişi'den 35'inde (% 74.4) FMF'in belirtilen 3 mutasyon tipi gözlemlendi. Bu mutasyon analizleri sonucunda; 26 kişide M694V'nin (Metionin/Valin) (% 55.32) ve 7 kişide M680I'nın (Metionin/İzolösün) (% 14.9) görüldü. Bunlara ilaveten bir kişide V726A (Valin/Alanin)/M680I (Metionin/İzolösün) ve bir kişide de M694V (Metionin/Valin)/M680I (Metionin/İzolösün) birleşik heterozigot mutasyonu tanımlandı.

FMF ile ilişkili olan ve pirin geninin 10. eksonunda yer alan nokta mutasyonları içerisinde M694V mutasyonu; tüm gupta en sık saptanan mutasyon idi.

Anahtar Kelimeler: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), Kahramanmaraş, Mutasyon

ABSTRACT

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive inflammatory disorder characterized by recurrent attacks of serozal membranes. It is frequently observed in communities originating from East Mediterranean. It manifests with the episodes of fever accompanied by abdominal pain, arthritis, artralgia, chest pain, and erysipelas like erythema.

In this study, it was aimed to investigate the most frequently seen 3 types of mutations (M694V, V726A and M680I) in exon 10 from 47 patients (E/K: 27/20) which diagnosed as FMF according to Tel-Hashomer criteria. Complete blood samples were taken from patients that clinically diagnosed as FMF and DNAs were isolated from leucocytes. PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) method was performed on DNA samples. Thereafter, the frequency of point mutations related with FMF in this group is determined by gel electrophoresis. Consequently, indicated 3 mutation types of FMF are observed in 35 of 47 patients with FMF (74.4 %). As a result of these mutation analyses, the rates of the corresponding mutations were 55.32 % for M694V (Methionine/Valine) in 26 persons, and 14.9 % for M680I (Methionine/Isoleusin) in 7 persons. Additionally, compound heterozygot mutations were detected as V726A (Valine/Alanine) /M680I and M694V(Methionine/Valine)/M680I (Methionine/Isoleusin) in 2 persons.

Among the point mutations located on exon 10 of pyrin gen related with FMF, M694V was the most frequently determined mutation type in the entire group.

Key Words: Familial Mediterranean Fever, Kahramanmaras, Mutation,

GİRİŞ VE AMAÇ:

Ailevi Akdeniz Ateşi (Familial Mediterranean Fever: FMF); tekrarlayıcı, otozomal resesif geçişli, seröz membranların inflamasyonu sonucu ortaya çıkan karın, göğüs ve eklem ağrılarında ateşin eşlik ettiği bir hastalıktır. FMF Doğu Akdeniz kökenli topluluklarda özellikle Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar'da sık görülür (1).

İlk Olarak 1992 yılında FMF geninin 16. kromozom üzerinde olduğu açıklanmıştır, moleküler tanı FMF'in klinik tanısına yardımcı olmaktadır. Bildiğimiz kadarı ile 55 FMF mutasyon tipi belirlenmiştir. En sık rastlanan mutasyon tipleri M694V, M694I, M680I ve V726A olup ekson 10'da bulunmaktadır. Bu dört mutasyon toplam FMF allellerinin % 70 kadarını oluşturduğu bildirilmektedir (2). Daha az sıklıkta görülen mutasyon tipleri ise ekson 1, 2, 3, 5 ve 9'da bulunmaktadır (3). Türk FMF çalışma grubunun sonuçlarına göre hastalığın görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5 gibi yüksek değerlerdedir (1). Yurdumuzun çeşitli yörelerinde FMF mutasyon tiplendirmesi ve taşıyıcılık sıklığı üzerine yapılan çalışmalarda yalnız Akdeniz bölgesinde değil diğer yörelerde de FMF hasta ve taşıyıcılarının bulunduğu bildirilmiştir. Kahramanmaraş ve yöresinde bilindiği kadarı ile FMF üzerine moleküler düzeyde çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda KSÜ Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran FMF hastalarında yurdumuzda sık görülen üç mutasyon tipinin ve oranlarının moleküler düzeyde araştırılması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER:

2.1 AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ:

(FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER: FMF)

FMF; otozomal resesif kalıtmımlı, akut, kendini sınırlayan ateş atakları ile karakterize, inflamatuvar bir hastalıktır. Bu ataklara genellikle steril bir peritonit, plörit, mono veya oligo-artiküler artrit ve/veya deri döküntüleri eşlik eder (4).

FMF hastalarının yaklaşık % 90'ında klinik bulgular 20 yaşından önce ortaya çıkar (5). Hastalığın başlangıç yaşı ortalama 4'tür ve bu özelliği nedeniyle aslında bir çocukluk çağı hastalığıdır (6).

FMF hastalığının tipik özellikleri, akut başlangıçlı ateş atakları ve eşlik eden karın, göğüs veya eklem ağrısıdır. Akut inflamasyon daha çok periton, plevra ve eklemleri tutmakla birlikte ciltten skrotuma kadar çok farklı lokalizasyonlarda tutulum bildirilmiştir (7). FMF ataklarına özgü belirtilerin görülme sıklığı Şekil-1'de verilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda inflamasyonu başlatan etyolojik bir ajan gösterilememiştir ve hastalar genellikle atakları başlatan bir etken tarif edemezler. Ancak FMF ataklarının bazı hastalarda menstruasyon, duygusal stres veya ağır fiziksel aktivite dönemlerine rastladığı görülür. Yine bazı hastalarda "titreme" benzeri yakınmaların bulunduğu prodromal dönem görülmektedir.

Tipik atak süresi 12–72 saat arasındadır. Ancak atağa eşlik edebilen artralji veya artrit daha uzun sürmektedir. Ortaya çıkan ateşin yüksekliği veya tutulan inflamasyon bölgesi (abdominal, plevral veya eklem) bir ataktan diğerine farklılık gösterebilir. Atakların seyri hastalar arasında farklılık gösterebildiği gibi aynı ailenin bireylerinde dahi farklı atak seyirleri görülebilmektedir.

2.2.Genetik Geçiş

FMF, otozomal resesif geçiş göstermektedir. FMF'in ülkemizde görülme sıklığı 1/1000 olarak bilinmektedir (1,8). Taşıyıcılık oranı ise değişik araştırmalarda % 15-34 olarak rapor edilmiştir (1). Bir başka deyişle ülkemizde her 5 kişiden birisi taşıyıcı konumundadır. MEFV geni (Mediterranean Fever) 16. kromozomun kısa kolunda (16p 13.3) lokalize olmuştur ve 781 aminoasitli bir proteini (pirin) kodlamaktadır. Pirin proteinin FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nörofillerin aktivite edilmesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol aldığı belirtilmektedir (9,10).

Bu bulgulara rağmen yine de FMF'in kesin nedeni anlaşılamamıştır. 1992 yılında hastalık geni olan MEFV 16. kromozomun kısa kolunda saptanmış, 1997 yılında ABD ve Fransa'dan birbirinden bağımsız iki grup FMF genini klonlamıştır (2,11). Fransız FMF Konsorsiyumu kendi çalışma gruplarında taşıyıcı kromozomların % 85'inde hastalıkla ilgili 4 mutasyonu göstermiştir (M694V, M680I, M694I, V726A). 1998'de bu mutasyonlara ek olarak ekson 10'da dört tane daha nadir görülen yeni mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar; 692'de delesyon, Lys695Arg, Ala744Ser, Arg761His'dir. Bundan sonra ekson 2, 3, 5, 1 ve 9'da 36 mutasyon belirlenmiştir. Ekson 5'te Phe479Leu, ekson 2'de Glu148Gln, Glu167Asp, Thr267Ile bunlardan bazılarıdır (3). FMF'li hastalar genellikle homozigot veya karma homozigot (2 alelde 2 farklı mutasyon taşıyan, compound heterozigot) olarak görülmektedir.

MEFV'nin kodladığı "pyrin/marenostrin" proteinin tam işlevi bilinmemekle birlikte inflamasyon mediatörlerinin baskılanmasında yeri olabileceği düşünülmektedir (12,13,14). 15 kb'lik bir bölge olan MEFV geninde 10 ekson bulunmakta olup bunun 781 aminoasitlik bir proteini kodladığı ve sadece olgun granülositlerde sentezlendiği gösterilmiştir (5,15). Bu proteinin sistemik lupus ve sjögren sendromunda görülen otoantijenik bir ribonükleoproteini de içeren Ro-Ret protein ailesine dahil olduğu görülmüştür. (16,17).

Amiloidozlu hastalarda en sık M694V homozigotluğunun olması bu mutasyonun amiloidoza yatkınlık oluşturduğu sonucunu ortaya koymuştur (18,19,20). Bunun aksine V726A mutasyonun tanımlandığı Ashkenazi Yahudileri, Dürziler, Ermeniler ve Irak Yahudileri gibi bazı etnik gruplarda amiloidoz sıklığının daha düşük olduğu bulunmuş (21).

Bu bilgiler ışığında mutasyonların amiloidoz oluşumunu açıklamada tek başına yeterli olmadığı, M694V homozigotluğu olsun olmasın tüm FMF hastalarının risk altında olduğu ve tedavi gerektirdiği sonucuna varılmıştır (22).

Tablo 1: Etnik kökenlere göre MEFV mutasyonlarının dağılımı

MUTASYON	EKSON	NÜKEOTİD	NÜKLEOTİD DEĞİŞİMİ	ETNİK GRUP
148E-Q	2	442	G-C	Arap, Ermeni
167E-D	2	543	G-C	Ermeni
267T-I	2	801	C-T	Polonya, Alman olmayan Musevi
369P-S	3	1105	C-T	
408A-G	3	1223	G-A	
479F-L	5	1413	C-G	Ermeni
680M-I	10	2040	G-C	Ermeni, Türk
680M-I	10	2040	G-A	
681T-I	10	2042	C-T	
692I del	10	2074-2076	AAT del	Dürzi (Suriye kökenli)
694M-V	10	2080	A-G	Yahudi, Ermeni, Türk, Arap
694M-I	10	2082	G-A	Arap, Türk
694M del	10	2080-2082	ATG del	
695K-R	10	2084	A-G	Yahudi, Türk
726V-A	10	2177	T-C	Dürzi (Suriye), Yahudi, Türk
744A-S	10	2276	G-T	Arap, Türk
761R-H	10	2283	G-A	İtalyan, Ermeni, Türk

2.3 FMF' in Patogenezi

Otozomal resesif geçişli olan FMF hastalığına neden olan gen (MEFV) sağlıklı kişilerde inflamasyonu kontrol altında tutmaya yarayan, araştırmacıların pirin ya da marenostirin (Marenostrium: Akdeniz) adını verdikleri bir proteini kodlamaktadır. Bu yüzden bu gende oluşacak mutasyonlar pirinin görevini yapamamasına ve inflamasyon kontrolünün bozulmasına neden olur (2,23). Eklemlere olan minör travmalar ve çeşitli sitokinlere bağlı stresin neden olduğu inflamatuvar yanıt normal pirin varlığında inhibe edilebilirken FMF'li hastalardaki mutant pirinin varlığında bu cevabın kontrol edilemediği sanılmaktadır (5).

Ayrıca FMF'de inflamasyon ataklarının periyodik olarak gelişmesi, proteinin normal şartlarda görevini yerine getirebilirken stres durumunda yerine getirmediğini düşündürmektedir. Periyodik ataklarla seyreden diğer pek çok hastalıkta da bu işleyiş görülebilmektedir, tıpkı orak hücreli anemi ve hiperkalemik periyodik paralizde olduğu gibi. Bu hastalıklar anormal protein kodlayan missense mutasyonlar ve bunun neticesinde proteinin normal görevini yerine getirememesi sonucunda karşımıza çıkar. Hastalarda bulguların ortaya çıkması, bazı çevresel faktörlerin proteinde değişikliklere neden olması veya zaten hassas olan dengeyi bozmasına bağlanmaktadır (2).

MEFV gen ürünü olan pirin fonksiyonunun anlaşılmasıyla sadece FMF patogenezi değil aynı zamanda genel olarak inflamasyonun işleyişi de aydınlatılabilecektir. Kemik iliği hücrelerinde MEFV mRNA'sı belirlenememiştir. Pirinin yaygın olarak olgun nötrofillerde eksprese edilmesi bu proteinin muhtemelen inflamasyon mediatörlerinin down regülasyonunu sağladığını düşündürmektedir (11,14). Nötrofiller akut inflamasyonun ana hücreleri olduğundan, pirinin bu hücrelerdeki rolünün önemli olabileği bildirilmektedir (11).

Bu konuda diğer önemli bir nokta; sinovyal ve peritoneal hücrelerdeki pirin ekspresyonunun yetersizliği bu proteinin dokuda spesifik tarzda etkili olmadığı şeklinde belirtilmektedir (24). FMF hastalarında MEFV mRNA ekspresyonu sağlıklı kişilere göre daha düşük düzeyde bulunmuştur (24,25). Mutasyon nedeniyle pirinin görev yapamaması, kontrolsüz nötrofil aktivasyonuna ve bu hücrelerin serozal dokulara göçüne neden olabilir. Bununla birlikte hedefin niçin serozal dokular olduğu halen açıklık kazanmamıştır (24).

Patogenezi ile ilgili hipotezlerden biri FMF'in inflamasyon mediatörlerinin biyosentezinde görevli bir protein olan lipokortinin bozukluğuna bağlı olarak geliştiği ya da C1 esteraz inhibitör defekti ile ortaya çıkan kalıtsal anjiödem benzer inflamasyon

yanıtını düzenleyen bir inhibitörü kodlayan genin defekti sonucu ortaya çıktığı şeklindedir (24,25).

Bir diğerk hipotez de FMF ataklarının stres ile ortaya çıkmasına dayanmaktadır. Barakat ve ark. katekolamin metabolizmasında muhtemel bir bozukluğu ortaya koymak amacıyla sempatomimetik etkili bir ajan olan metaraminol infüzyonunu kullanmışlardır (26). Burada metaraminole bağılı endojen katekolamin deşarjı ile FMF benzeri semptomlar oluşturulmaya çalışılmıştır. İnfüzyon sonrası ortaya çıkan yakınmalar FMF ataklarına benzemekte ve kolşisin tedavisinden fayda görmektedir.

FMF’de nötrofil fonksiyonlarının normal olduğu ancak FMF olmayan hastaların nötrofilleri ile karşılaştırıldıklarında bazı fonksiyonel farklılıklar olduğu saptanmıştır. Yapılan invitro çalışmalarda FMF hastalarının nötrofillerinin kemotaksi, fagositoz ve mikrotübüler fonksiyonları ile ışık ve elektron mikroskopilerinde morfolojilerinin normal olduğu belirlenmiştir (27). Asemptomatik FMF hastalarının nötrofilleri ısı veya hipotonik uyarılar karşısında normalden fazla lizozom bulundurmaktadır (28).

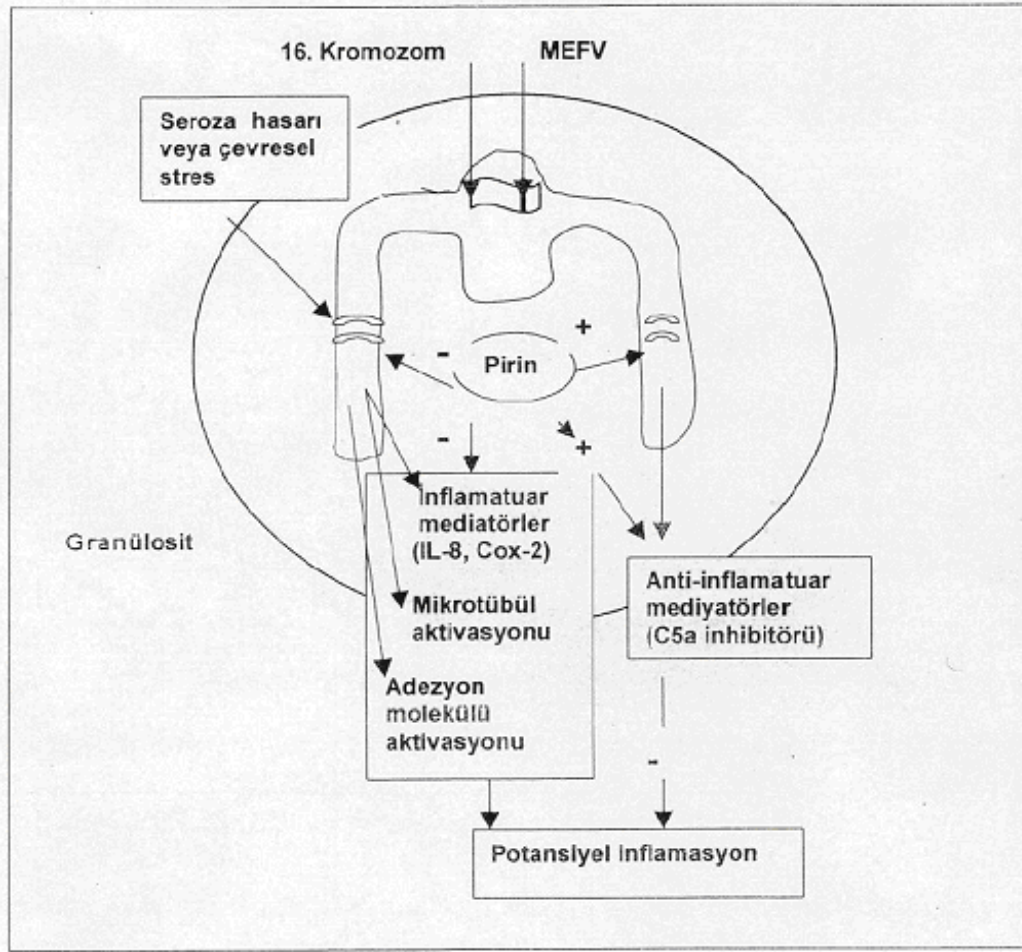
Bazı araştırmacılar FMF hastalarında görülen immunolojik değişiklikleri incelemişler ve etyopatogeneizde otoimmün mekanizmaların da rol alabileceğini öne sürmüşlerdir. Hastalarda immünglobulinlerde poliklonal artış görülmektedir (29). Aynı zamanda in-vitro çalışmalarda atak sırasında interlökin-1 (IL1) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) indüksiyonunun azaldığı belirlenmiştir (30). Bu bulgular arasında en dikkat çekici olan interlökin 8 inhibitör faktörünün ve kemotaktik faktör C5a’nın düşük düzeylerde bulunmasıdır (31). Serumda IL-8 düzeylerinin artmış olması da kontrolsüz bir IL-8 salınımının proinflamatuvar cevapta rolü olabileceğini düşündürmektedir (32). Lökosit-endotel yapışması ve dokularda lökosit birikiminin önemli mediyatörlerinden olan IL-8 ile yapışmada yer alan ICAM-1’in çözünür formunun kontroller ile karşılaştırıldığında Türk FMF hastalarında ataklar sırasında anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (5). Ancak ilginç bir bulgu SICAM-1’in remisyonda da yüksek seyretmesidir. Benzeri bulguların akut faz reaktanları için de gösterilmiş olması FMF’in klinik olarak remisyonda görüldüğü dönemlerde de subklinik inflamasyonun sürdüğünü düşündürmektedir (5).

Bir başka ve bugün için en kabul gören hipotez, FMF’in peritoneal sıvı ve eklemlerde C5a inhibitör aktivitesinin yetersizliği sonucu oluştuğudur. Bu hipotezi ortaya atan araştırmacılar, granüositler için oldukça güçlü bir kemoatraktan olan C5a’yı inhibe eden inhibitör eksikliğinin akut inflamatuvar atağa neden olabileceğini bildirmişlerdir (33). Sağlıklı kişilerin sinoviyal ve peritoneal sıvıları C5a’nın kemotaktik aktivitesini engelleyen bir inhibitör protein taşırlar. Bu protein normal şartlar altında çeşitli nedenlerle aktive olan

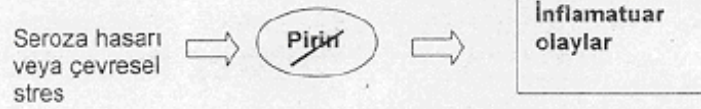
C5a'yı inhibe ederek inflamasyonu kontrol etmektedir. Eksikliği durumunda ise seröz zarlarda inflamasyon ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda bu hastaların eklem ve sıvı örneklerinde C5a inhibitör aktivitesi saptanmamıştır (2).

Kastner ve arkadaşları FMF'in ağır inflamasyonla karakterize bir hastalık oluşu, MEFV geninin yalnızca nötrofillerde eksprese olması ve pirinin hücre çekirdeğine ait olmasından yola çıkarak pirinin fonksiyonunu ve FMF mutasyonlarının etkilerini açıklayıcı varsayımına dayalı (hipotetik) bir şema geliştirmişlerdir (Şekil 2). Bu hipoteze göre pirinin normal işlevi nötrofil kaynaklı inflamasyonun, büyük ihtimalle yine nötrofil düzeyinde baskılanmasıdır (down regülasyon). Pirin nötrofillerin proinflamatuvar bir molekülünün transkripsiyonel baskılayıcısı veya antiinflamatuvar bir molekülün arttırıcısı (up regülatörü) olabilir. Her iki durumda da FMF'in resesif olarak kalıtsal geçiş göstermesi mutasyonların fonksiyon kaybına neden olduğunu düşündürmektedir. Atakların dokuya özgün olması belki de bazı hücre dışı ajanların serozal veya sinovyal membranlara tropizm göstermesi ya da pirinin serozal veya sinovyal vasküler yatakları hedef alan bir yapışma (adezyon) molekülünün ekspresyonuna neden olduğu varsayımı ile açıklanabilir (7).

Pirin, FMF hastalarında daha önce eksik olduğu gösterilmiş olan C5a/IL-8 inhibitör faktörünün biyokimyasal tanımına tam uymamakla birlikte, Matzner, normal pirinin bu inhibitörün biyosentezini aktive ettiği hipotezini ortaya atmışlardır (31). Bu teori ile serozada meydana gelen sublinik inflamasyon sonrası açığa çıkan kemotaktik faktörleri inhibe edebilecek yeterli inhibitör olmayışı ve böylece MEFV mutasyonlarının FMF ataklarına yol açtığı öne sürülmüştür. Normal şartlarda önemsiz olan bir proinflamatuvar uyarı nötrofilleri uyararak C5'den daha fazla C5a oluşumuna neden olabilir ve daha sonra enzimleri açığa çıkararak sürekli bir inflamasyona yol açabilir. MEFV mutasyonları ve C5a/IL-8 inhibitör eksikliği arasındaki muhtemel ilişkilerin incelenmesi bu teorilerin geçerli olup olmadığını gösterecektir (32,34).



FMF Hastaları:



Şekil 1: FMF'in patofizyolojisi

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ

BELİRTİ VE BULGULAR

SIK GÖRÜLENLER

MEFV Mutasyonu olan hastalarda
belirti ve bulgular (% Olarak)

%96 Ateş

%57 Plörezi

%2 Amiloidöz

%91 Steril
Peritonit

%45 Artrit -
Artralji

%13 Erizipel /
Erizipel benzeri
eritem

DİĞERLERİ

Baş ağrısı

Aseptik
menenjit

Perikardit

Splenomegali

Poliarteritis Nodoza
Glomerülonefrit

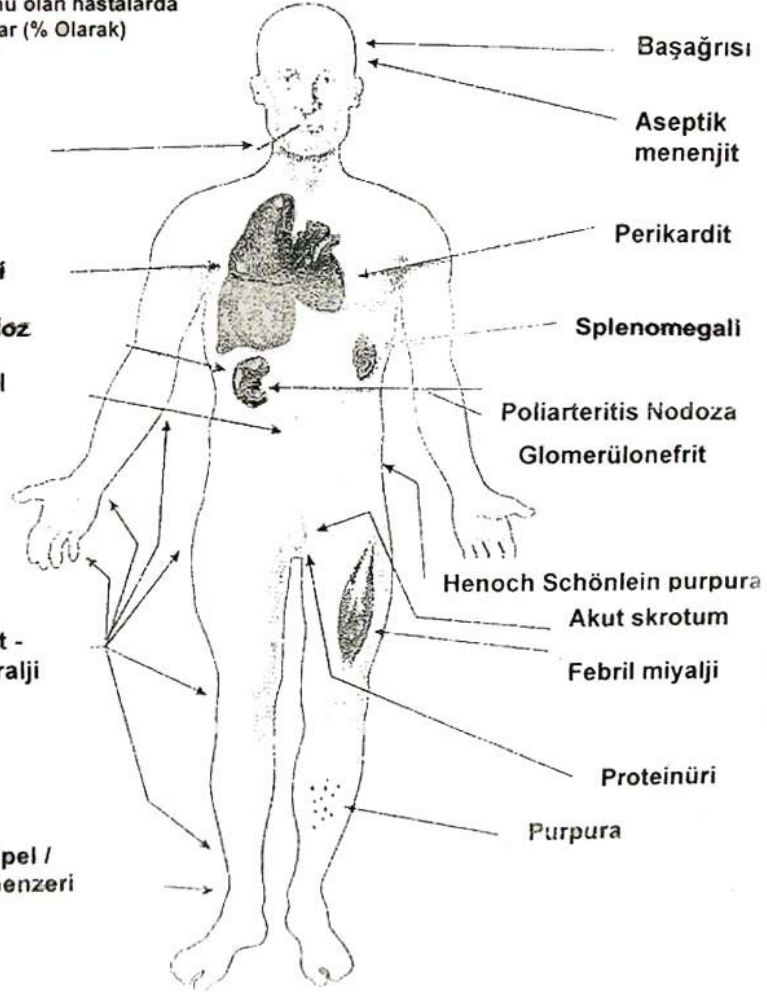
Henoch Schönlein purpura

Akut skrotum

Febril miyalji

Proteinüri

Purpura



Şekil 2: FMF hastalığında görülen belirti ve bulgular. Akut scrotum dışındaki tüm belirti ve bulguların görülme sıklığı cinsiyet ayrımı yapılmadan hesaplanmıştır.

2.4 Klinik Özellikler

2.4.1 Ateş:

Ateş her atak sırasında görülen ve tanı için gerekli kabul edilen bir bulgudur. Çok nadir olmakla birlikte bazı vakalarda ateş olmayabilir (5,12,13). Atak sırasında hastanın ateşi 38-40 °C arasında değişebilir. Ateş atak boyunca devam eder ve ortalama 12-72 saat kadar sürebilir. Genelde ateşe diğer bulgular eşlik eder, fakat nadir de olsa yalnız ateşle seyreden olgularda tarif edilmiştir. Kolşisin alan hastalarda ataklar sırasında ateş görülmeyebilir (5,12,13,14). 40 °C'ye varan, ağrı ya da başka lokalize inflamasyon bulgularının eşlik etmediği kısa süreli izole ateş yükselmeleri özellikle çocuk hastalarda görülüp birkaç saat sürer. FMF'in bu fenomeni çoğu zaman yanlılıkla viral farenjite veya tonsillite bağlanır (5). Bazı ataklarda ateş tek bulgu olarak karşımıza çıkabilmektedir.

2.4.2 Karın Ağrısı:

FMF hastalarının hemen hepsinde (atakların en azından bir kısmında) karın ağrısı görülür. Yaklaşık % 50 hastada karın ağrısı ilk belirti olarak bildirilmektedir (5). Karın ağrısı bir kadrana lokalize veya tüm karında yaygın olabilir ve şiddeti hafif şişkinlik hissinden ağır peritonit semptomlarına kadar değişiklik gösterir. Bu semptomlar, tahta karın, defans veya ayakta çekilen direkt karın grafisinde hava-sıvı seviyelerinin görülmesi akut batın oluşturan hastalıkları akla getirir (15). Peritonit peristaltizmi azalttığından hastalar diyareden çok konstipasyondan yakınır. Hastaların geçmişinde genellikle steril inflame peritonit dışında negatif olarak sonuçlanmış apendektomi, tanısal laparotomi veya laparoskopi bulunur. Hatta bir çalışmada, FMF hastalarında gereksiz acil cerrahi girişim riskini ortadan kaldırmak amacıyla elektif apendektomi yapılması önerilmiştir (15). Karın ağrısı ile başvuran hastaların ayırıcı tanısında çok sayıda hastalık olmasına rağmen, hastayı ilk değerlendiren doktorlar genellikle akut apandisit düşünmektedir. Bunun nedeni FMF hastalarının yakınmalarının genellikle 20 yaşından önce başlamasıdır. Ancak ateş ve ağrının kendiliğinden gerilemesi veya apendektomi sonrasında tekrarlaması diğer tanılara yöneltmektedir. Kadınlarda endometriyozis, pelvik inflamatuvar hastalık ve over kistlerini ekarte etmek amacıyla jinekolojik değerlendirme yapılması gerekmektedir.

Daha önce çok sayıda atak öyküsü bulunmasına rağmen tanının konması güç olabilir, çünkü "porfirya" gibi pek çok hastalık epizodik karın ağrısı ve ateş ile seyredebilir. Ancak dominant kalıtmıli porfirya hipertansiyona neden olabilir ve idrarda ataklar sırasında artmış porfirinler bulunur (16). Ateş olmaksızın karın ağrısı olan hastalarda herediter

anjioödem düşünülebilir ancak bu hastalık da otozomal dominant kalıtmıdır ve tanısında düşük C1 esteraz inhibitör seviyesinin ölçümü faydalı olabilir (17). Ailevi hiperkolesterolemiye sekonder pankreatit de ataklar halinde gelen karın ağrısı ile FMF benzeri bir tabloya neden olabilmektedir, ancak bu hastalıklarda tipik olarak 1000 mg/dL üzerinde trigliserid düzeyi bulunmaktadır (18).

2.4.3 Göğüs Ağrısı:

Plörüt unilateral ve bilateral göğüs ağrısına neden olup hastaların % 25-50'sinde görülür. Semptomlar 24-72 saat sürer ve sıklıkla tek taraflıdır (19). Bu tek taraflı febril plörüt de tıpkı peritoneal ataklar gibi ani başlangıçlı ve önceden belirlenemeyen tekrarlarla seyrettiğinden akut bir tablo zannedilebilir. Sıklıkla daha uzun süren infeksiyöz plöritten hızlı bir şekilde düzelmesi ile ayırtedilebilir. Nefes alıp verirken ağrı olur ve etkilenen tarafta solunum sesleri azalır. Kostofrenik sinüsteki az miktardaki eksuda radyolojik olarak gösterilebilir. Bu eksuda çok sayıda nötrofil içerip 48 saat içinde geriler (8). Bu atakların sıklığı çeşitli etnik kökenler arasında farklılık gösterip Türkler ve Ermenilerde non-Ashkenazi Yahudilere göre daha sıktır (20). Ayrıca M694V homozigotluğu ile plörüt arasında ilişki saptanmıştır (21). Perikardit ise FMF'in nadir bir özelliği olup tamponatla komplike olmadıkça tanısı zordur (19). Perikardit ataklarında retrosternal ağrı, EKG'de ST elevasyonu, ekokardiyografide perikardial efüzyona dair kanıtlar veya göğüs radyogramında kalp gölgesinde geçici genişleme görülebilir (22).

2.4.4 Eklem Ağrısı:

FMF olan Kuzey Afrika Yahudileri'nde eklem ağrısı yaklaşık % 75 oranında bildirilmekle birlikte diğer FMF popülasyonlarında eklem ağrısı %50'den daha az sıklıkla bildirilmiştir (5). Artrit klasik olarak monoartikülerdir ve en sık olarak diz, dirsek veya kalça tutulur (35). Bazı hastalar özellikle ayaklar ve üst ekstremiteleri içine alan yaygın artraljiden yakınırlar. Sakroileit tek başına veya omurga tutulumuyla birlikte görülebilir ancak genellikle HLA-B27 negatif hastalarda görülür (36). Artriti olan hastalarda steril, nötrofillerin yoğunlukla görüldüğü sinovyal sıvı artışı vardır. Ancak eklemde şişme veya ısı artışı bulunmayabilir. Akut atak sırasında direkt grafilerde kemik yapılarında herhangi bir değişiklik olmaz. Tipik olarak akut artrit atağı birkaç günde geriler ancak eklem yakınmalarının bir aya kadar uzadığı da görülebilir (37).

FMF artriti ani başlangıçlıdır ve 3 tane karakteristik özelliği vardır;

1. İlk 24 saatte bu artrite çok yüksek ateş eşlik eder.

2. Genellikle alt ekstremitenin büyük eklemleri olan ayak bileği, diz ve kalça eklemlerinden birini etkiler.

3. Bulgular ve şikayetler sıklıkla 24-48 saat içinde zirveye ulaşır sonra hızla düzelir ve sekel bırakmazlar.

Kolşisin kullanımı sonrasında daha az görülmeyle beraber, akut artrit ataklarının küçük bir kısmında, ağır efüzyonun bulunduğu kronik bir artrit gelişebilir (23). Bu hastalarda genellikle ikinci bir eklemden de sinoviyal sıvı vardır ve eklem çevresi kaslarda belirgin atrofi ile radyolojik olarak da osteoporoz, litik erozyonlar veya osteonekroz görülür. Pek çok hastada artrit, iz bırakmadan geçmektedir ancak özellikle kalçasında kronik artrit olan hastalarda fonksiyon kaybı gelişebilir. Kalça eklemine sık tekrarlanan aspirasyonu ile osteonekroz ve cerrahi müdahale ihtiyacı önlenmektedir (38). Kronik diz efüzyonu olan hastalar da kimyasal veya cerrahi olarak sinovektomi uygulanması gerekebilir (39). Spondilartropati kolşisin tedavisine cevap vermez ancak nonsteroid antiinflatuar ilaçlar ve ikinci basamak antiromatizmal ilaçlar ile tedavi yararlıdır (36). Omurgada en sık görülen tutulum lomber vertebraların füzyonudur ancak servikal omurga füzyonuna bağlı boyun ağrısı da bildirilmiştir (36).

Tekrarlayan monoartritlerin çeşitli ve çok sayıda nedeni olması sebebiyle kristal artropatiyi ve infeksiyonu ekarte etmek amacıyla eklem aspirasyonu ve elde edilen örneğin kültürünün yapılması gereklidir (40). Şiddetli ve inatçı eklem ağrısında diğer bağ dokusu hastalıkları ayırıcı tanıya alınmalıdır. Çocuklarda eklem ağrısının görülme sıklığı daha yüksek olduğundan sistemik belirtileri olan juvenil romatoid artrit (JRA) göz önünde tutulmalıdır. Ancak sistemik JRA tipik deri döküntüsü ve lenfadenopati ile FMF'den ayrılır. Uzun süreli JRA genellikle kronik artrit ve radyografik değişikliklere neden olur (12,40).

2.4.5 Cilt Bulguları:

Cilt ile ilgili bulguların sıklığı çeşitli yayınlarda % 12 ile % 43 arasında bildirilmiştir (41). Bunlar içinde en sık görüleni olan erizipel benzeri eritem FMF'li çocukların % 11'inde görülür ve patognomonik kabul edilir. Bu lezyonlar düzgün sınırlı, kırmızı yama şeklinde döküntü ile karakterizedir. Sıcak, ağrılı ve şiş olup 10 ile 35 cm²'lik bir alanı kaplar. Çoğunlukla alt ekstremitelerde ayak bileği ile diz arasında ve ayak sırtında bulunurlar. Beraberinde 1-2 gün süren ateş yüksekliği bulunabilir (5). Erizipel benzeri eritemin ayak bileğinde artrit olan hastalarda daha sık olduğu saptanmıştır. Ortalama 2-3 gün sürer. Bunun dışında ödem, tekrarlayan oral aftlar, purpura, psöriazis, eritema

nodozum da FMF’de görülebilen mukokütanöz lezyonlardır. Ayrıca yüz, gövde ve ekstremitelerde multipl eritemler görülebilir (42).

Kendini sınırlayan anjionötik ödeme benzeyen şişlik, kutanöz bulguların % 16’sını oluşturur. Cilt bulgularının sıklığı açısından önceden zannedilenin aksine M694V homozigotluğunun erizipel benzeri eritem dışındaki diğer cilt bulguları ile ilişkisi olmadığı ortaya konulmuştur (42).

2.4.6 Vaskülit:

Henoch Schönlein Purpurası (HSP), Poliarteritis Nodosa (PAN) gibi vaskülitlerin FMF’li hastalarda ortaya çıkma oranının genel populasyona göre daha sık olduğu saptanmıştır. Buradaki vaskülitin patogenezi net olarak bilinmemekle birlikte immun kompleks mekanizması üzerinde durulmaktadır (43). Bu hastaların % 50’sinde dolaşan immun kompleksler, kompleman tüketimi ve artmış immun globulin düzeyleri gösterilmiştir (44). Cilt ve böbrek biyopsi örneklerinde immunglobulinler ve C3’ün gösterilmesi yukarıdaki hipotezi desteklemektedir. Bazı infeksiyöz ajanların tetikleyici rol oynayabileceğini akla getirmektedir (45).

Böbrek tutulumlu FMF hastalarında vaskülit oluşumunun sıklığı ve vaskülit FMF ilişkisinin, bu hastalıkta kontrolsüz şekilde artmış olan inflamatuvar cevabın bir sonucu olduğunu düşündürmektedir. Vaskülit olan ve olmayan FMF hastaları arasında mutasyon sıklığı ve bilinen mutasyonlar açısından fark saptanmamıştır (45). HSP en sık görülen vaskülit olup, sıklığı % 5-7 arasında değişir. PAN %1 oranında görülür (5). Hastaların pekçoğunda FMF tanısı vaskülit geliştikten sonra konulur (45). Bu hastalar kompleman aktivasyonunun inhibisyonundaki bozukluktan dolayı akut damar yaralanmalarına ve siklosporin A toksisitesine daha duyarlıdır. PAN vaskülit bu hastalarda daha yaygın seyredir (46). FMF’li hastalarda PAN daha küçük yaşlarda ortaya çıkmaya ve perirenal hematomla komplike olmaya meyillidir, miyalji ve deri altı nodüller daha sık görülür. PAN’lı hastalar değerlendirilirken altta yatan bir FMF hastalığı olabileceği akla getirilmelidir (46). FMF ve Behçet’in birbirine benzeyen bazı özellikleri ve birlikte görüldüklerine dair yayınlar vardır ancak aralarındaki ilişki net olarak bilinmemektedir (47).

2.5 Nadir Görülen Semptomlar:

FMF hastalarının küçük bir yüzdesinde akut skrotal inflamasyon görülür. Genellikle tek taraflıdır ve prepubertal erkek hastalarda ilk ortaya çıkan bulgu olabilir. Bu vakalarda yaklaşık 12 saatte tedrici olarak artan ağrı, skrotal şişme ve ödem ile testis torsiyonu gelişebilir. Ancak vakaların çoğunda genellikle sadece tunika vaginalis tutulmaktadır. Eğer testis sintigrafisi perfüzyonda azalma göstermiyorsa konservatif tedavi yeterlidir (48).

FMF hastalarının % 20 kadarında miyalji vardır. Kas ağrısı iki farklı şekilde ortaya çıkabilir. Hafif olan tipinde kas ağrısı genellikle iki gün sürer ve genelde akşamları ortaya çıkar; etkilenen hastalar fiziksel aktivite ile artan alt ekstremitte ağrılarında yakınır ve bu ağrıları genellikle NSAİ ilaçlara cevap verir. Nadir vakalarda hastalarda inatçı “febril miyalji” ortaya çıkar. Bu vakalarda ateş bir ay kadar sürebilir ve buna kas ağrısı, artrit, diyare ve purpura eşlik edebilir. Kortikosteroid tedavisi bu hastalarda belirgin düzelme sağlar ancak kolşisine bağlı miyopati ve nöropati ekarte edilmelidir (49).

Hastalarda sık olarak ataklara eşlik eden baş ağrısı görülür (50). Az sayıda vakada meninks irritasyonu ve buna eşlik eden beyin omurilik sıvısında protein ve hücre artışı bildirilmiştir (51).

Kadın FMF hastalarında fertilité olumsuz etkilenebilmektedir. Bunun nedeni muhtemelen pelvik yapışıklıklar veya abdominal ataklar nedeniyle gelişen abortuslardır (52).

Yüzde, gövdede ve ekstremitelerde epizodik, çok sayıda purpurik lezyonlar çocuk hastalarda sıklıkla görülmektedir (53). FMF hastalarında post infeksiyöz, mezengial, diffüz proliferatif (IgA veya IgM birikimi ile) ve tip II (immün kompleks) hızlı ilerleyen glomerülonefrit gibi çeşitli glomerülonefrit tiplerinin daha sık görüldüğü bildirilmiş olmakla beraber, glomerülonefritin, FMF hastalarında, genel popülasyondan daha sık olduğunu gösteren yeterli delil bulunmamaktadır (54).

2.6 Ataklar Arası Dönemler:

Kronik artritli olan hastalar dışında, hastaların büyük çoğunluğunda ataklar arası dönemlerde ateş ve ağrı bulunmaz; hastalar nadiren düşük dereceli ve sürekli bir ateş veya rahatsızlık hissi tarif ederler. Fizik muayenede splenomegali, amiloidi olmayan hastalarda bile sık saptanan bir bulgudur (55). Laboratuvar değerleri incelendiğinde bu dönemlerde hafif anemi, fibrinojen seviyesinde artma ve serum immunglobulinlerinde artma görülür (50).

Bazı hastalarda tekrarlayan ataklar veya daha önceden geçirilmiş cerrahi operasyon ve laporaskopiler nedeniyle karın içerisinde yapışıklıklar gelişir ve intestinal obstrüksiyon ortaya çıkabilir. Bir çalışmada FMF hastalarının % 3'ünde bu obstrüksiyonların geliştiği ve genellikle cerrahi girişime gereksinim duyulduğu saptanmıştır. Bu nedenle FMF'e ait diğer belirtiler olmadan gelişen karın ağrılarında obstrüksiyondan da şüphelenilmelidir (5).

2.7 FMF ve AA (Amiloid A) Amiloidoz:

Amiloidoz, çeşitli organlarda fibriler proteinlerin depolanması ile karakterize bir protein metabolizması hastalığıdır. Sistemik amiloidozun etyolojisi multifaktöriyel olup primer ve sekonder (reaktif) tipleri tanımlanmıştır (56).

FMF ve AA Amiloidoz hastalığının en önemli komplikasyonu sistemik progresif AA amiloidoz gelişimidir. Amiloidoz, FMF'li hastalarda sık görülen bir durum olup, FMF'in amiloid A (AA) protein depolanmasından kaynaklanan en ciddi komplikasyonudur. Bu AA tipi bir amiloidozdur ve son dönem böbrek yetmezliğine neden olan progresif nefropati olarak ortaya çıkar. FMF ile ilgili amiloidoz klinikte en sık nefrotik sendrom ile karşımıza gelir. Bu hastalar çoğunlukla normotansif ve nonhematüriktir (5). Bunun dışında kalp, böbrek üstü bezleri, karaciğer, tiroid ve ince bağırsaklarda da amiloidoza rastlanabilir (5). AA proteininin karaciğerde yapılan bir akut faz reaktanı olan SAA bir yıkım ürünü olduğu tahmin edilmektedir. SAA'nın uzun süre plazmada yüksek konsantrasyonda bulunması sonucu yıkım ürünü olan AA proteini dokularda birikebilir. Ancak SAA'nın artmış konsantrasyonu amiloidoz gelişimini açıklamak için yeterli değildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar amiloidogenezin genetik alt yapısını açıklama konusunda SAA polimorfizmi üzerine odaklanmıştır (57).

Çalışmalar, kalıtımın yanında amiloidozis gelişiminin çevresel faktörler ile de ilişkili olduğunu desteklemektedir. Ailesinde amiloidoz bulunan 600 Türk FMF hastasında yapılan bir çalışma ile genetik yatkınlık gösterilmiştir (58). Türkler ve Kuzey Afrika kökenli Yahudilerde amiloidozun daha sık görülen bir komplikasyon olduğu bildirilmişse de, yeni bir çalışmada Türklerdeki amiloidoz sıklığı sadece % 7 olarak saptanmış ve önceki çalışmalarda bildirilen % 60 gibi yüksek oranların, hastaların özellikle büyük nefroloji merkezlerinden seçilmesine bağlanmıştır (59).

Kolşisinin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından sonra FMF'li hastalarda komplikasyon olarak görülen amiloidozun sıklığında azalma görülmüştür. FMF'de görülen amiloidozun atakların sıklığı, süresi ve şiddetinden bağımsız olduğu düşünülmekteydi (60).

Ancak yakın zamanda saptanan bulgular amiloidoz ile hastalığın şiddeti arasında genel bir ilişki olduğunu destekler yöndedir (36).

Genotip-fenotip ilişkisinin değerlendirildiği çok sayıdaki çalışmada amiloidoz gelişimi ile ilişkilendirilen MEFV mutasyonları konusunda bir fikir birliği bulunmaktadır. Uluslararası FMF Birliği, V726A mutasyonunun hastalığın klinik şiddetinin daha düşük olduğu ve amiloidozun daha az geliştiği Ashkenazi Yahudileri, Dürzi'ler ve Ermeniler'de daha yüksek sıklıkta bulunmasından dolayı bu mutasyonun amiloidoz gelişiminden daha az sorumlu olduğunu öne sürmüştür (11). Ancak V726A mutasyonunu homozigot veya birleşik heterozigot olarak taşıyan hastalarda da amiloidoz geliştiği bildirilmiştir (61). Amiloidozu olan Ashkenazi dışı Yahudi FMF hastalarında en yüksek MEFV mutasyon sıklığı Livneh ve ark. tarafından bildirilmiştir (62). Otuz FMF'li ve amiloidozlu hastanın değerlendirildiği çalışmada 29 hastanın M694V mutasyonunu homozigot olarak taşıdığı saptanmıştır. Shohat ve ark. Kuzey Afrika Yahudileri, Türkler ve Ermenilerden oluşan hasta grubunda M694V mutasyonunu homozigot olarak taşıyan 87 hastanın 18'inde (% 21) amiloidoz bulunduğunu bildirmiştir (63). Shohat ve ark. bu çalışmalarının sonuçlarından yola çıkarak FMF'e ait semptomları bulunmayan ancak M694V/M694 genotipindeki hastalarda kolşisin tedavisine başlanması ve tipik FMF kliniği bulunan ancak M694V mutasyonunu taşımayan hastalarda ise kolşisin tedavisinin kesilmesini önermiştir. Ancak Türkiye'den bildirilen çalışmada Yalçınkaya ve ark. M694V mutasyonu dışında genotipik özelliği olan hastalarda da amiloidoz gelişebileceğini göstermişlerdir (61).

FMF hastalarında tam idrar tetkikinin düzenli aralıklarla yapılması mutlaka gerekmektedir. Çünkü amiloidoz gelişiminin erken dönemlerinde idrarda proteinüri görülmektedir. 35 çocuk FMF hastasının değerlendirildiği bir çalışmada proteinürinin, yaygın sistemik amiloidoza rağmen hastalığın tek belirtisi olduğu, atak sıklığı ve şiddeti açısından amiloidozu bulunmayan çocuk hastalardan farklılık saptanmadığı ve proteinüri saptandıktan sonra 5 yıllık sağ kalımın % 20 olduğu bildirilmiştir (64). Proteinüri varlığında mutlaka renal veya rektal biyopsi ile amiloidoz gösterilmelidir. Çalışmalar, FMF ile ilişkili amiloidozun tanısında biyopsi uygulanan bölgenin duyarlılığı etkilediğini ve duyarlılığın renal biyopsi için % 88, rektal biyopsi için % 50-80, gingival örnekleme için de % 60 olduğunu göstermiştir. Kemik iliği biyopsileri ve abdominal yağ dokusu aspirasyonları amiloidoz tanısında kullanılacak diğer yöntemler olarak bildirilmektedir. Abdominal yağ dokusu aspirasyonu rektal biyopsi kadar duyarlı iken (% 60-90), kemik iliğinden yapılan biyopsiler daha az (% 50-55) duyarlıdır (65).

2.8 Laboratuvar Bulguları:

FMF hastalığı için kesin tanı koydurucu bir laboratuvar testi henüz yoktur. Ataklar sırasında sık rastlanılan bulgular sola kayma ile birlikte olan lökositoz, eritrosit sedimentasyon hızındaki artış ve akut faz cevabında artıştır (CRP, SAA, fibrinojen, haptoglobulin, C3, C4). Bu bulguların tamamının akut ataklar arasındaki dönemde normal olduğu bildirilmesine karşın son zamanlarda SAA'nın subklinik inflamasyonu saptamada en iyi gösterge olduğu sonucuna varılmıştır (57).

Ataklar sırasında geçici albuminüri ve mikroskopik hematüri görülebilmektedir (66). IL1, IL6 ve TNF atak sırasında hastalarda yüksek bulunurken, IL6'nın ataklar arasındaki dönemde de kontrol grubundan yüksek olduğu ve bunun devam eden subklinik inflamasyonun göstergesi olabileceği düşünülmüştür (67). Atak sırasında eriyebilir (soluble) IL-2 reseptör (sIL-2R) düzeylerinin arttığı ve FMF'de sIL-2R'in aktivite kriteri olabileceği ileri sürülmüştür (33). Serozal sıvılarda C5a inhibitör aktivitesinde azalma saptanmıştır (68). FMF'e bağlı gelişen sinovitte sinovyal sıvı oldukça bulanık olup inflamatuvar sıvı özelliğinde görülür ancak viskozitesi korunmuştur ve sterildir (34).

2.9 Tanı:

Tanıda klinik bulguların varlığı esastır, ancak genetik tanı, özellikle klinik tanının şüpheli olduğu durumlarda önemlidir ve şüpheli klinik bulguların varlığında genetik mutasyon (+/+) saptanırsa tanı kesinleşir ve tedaviye başlanır. Aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyon saptanması, düşük penetrasyonlu bir mutasyona veya preklinik safhada olan hastanın erken saptanmasına neden olabilir. Bazı araştırmacılar klinik bulgular olmasa da kötü prognozu gösteren M694V mutasyonlu hastaların tedavi edilmesini önerirler (2). Tanıda hala klinik gidiş ve aile hikayesi genetik tanıya daha üstündür. Sadece klinik şüpheli vakalarda genetik tanıya gidilmesi gerektiğini göstermekte ve genetik tanının minör veya destekleyici bir kriter olarak kabul edilmelidir. Klinik tanı kesinse genetik tanı ne olursa olsun tanı değişmemekte ve tedaviye devam edilmektedir (69).

Tablo II: FMF'in genetik tanısına günümüz yaklaşımı

Klinik tanı	Genetik tanı	Son tanı	Tedavi kararı
Kesin FMF	+/+; +/-; -/-	Kesin FMF	Kolşisin
Şüpheli FMF	+/+ +/-; -/-	Kesin FMF Şüpheli FMF	Kolşisin Takip veya terapötik çalışma
FMF (-)	+/+ +/-; -/-	Preklinik veya düşük penetrans Taşıyıcı, FMF (-)	Klinik ve proteinüri takibi Tedavi ve takip

Tanı için değişik tanı kriterleri kullanılmaktadır (2,5).

Tel-Hashomer tanı kriterleri:

Majör kriterler:

- 1- Tekrarlayıcı poliserözit ve ateşli ataklar
- 2- Başka bir nedene bağlanamayan AA tipi amiloidoz
- 3- Sürekli kolşisin tedavisine iyi cevap.

Minör kriterler:

- 1-Yineleyen ateşli ataklar
- 2-Erizipel benzeri eritem
- 3-Birinci derece akrabalarda FMF varlığı

Kesin tanı: 2 majör veya 1 majör ve 2 minör

Şüpheli tanı: 1 majör ve 1 minör

Livneh ve arkadaşlarının önerdiği yeni kriterler:

Majör Kriterler:

Tipik ataklar (≥ 3 kez tekrarlayan aynı karakterde, atak süresinin 12-72 saat olması ve ateşli olması, ateşin 38°C ve üzerinde olması)

1. Yaygın peritonit
2. Plörit (tek taraflı) veya perikardit
3. Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)
4. Yalnızca ateş

5. İnkomplet abdominal ataklar

Minör Kriterler:

1. İnkomplet göğüs atakları
2. İnkomplet artrit atakları
3. Egzersizle ortaya çıkan bacak ağrısı
4. Kolşisine iyi cevap

İnkomplet ataklar:

Vücut ısısının $<38^{\circ}\text{C}$ olması

Sürenin daha uzun veya kısa olması (6 saat-1 hafta)

Abdominal atak boyunca peritoneal bulguların olmaması

Lokalize abdominal ataklar

Spesifik eklemlerin dışındaki eklemlerin tutulumu

Destekleyici Kriterler:

1. Ailesinde AAA bulunması
2. Etnik köken
3. Atakların 20 yaşından önce başlaması
4. Atağın ciddi yatak istirahati gerektirmesi
5. Atakların kendiliğinden geçmesi
6. Ataklar arası semptom olmaması
7. Geçici inflamasyonu gösteren anormal test cevabı (lökositoz, ESR, fibrinojen, SAA artışı)
8. Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri
9. Gereksiz laparotomi veya apendektomi varlığı
10. Akraba evliliği

Kesin tanı

1 major kriter veya;

En az 2 minör kriter veya;

1 minör 5 destekleyici kriter veya;

1 minör ve destekleyici kriterlerden ilk 5'inden 4 tanesinin bulunması gerekir.

Tel-Hashomer Ağırlık Skor Anahtarı:

Hastalığın şiddeti ve klinik özellikleri etnik gruplar ve hastalar arasında belirgin farklılık gösterebildiği için hastalığın başlangıç yaşı, atak sıklığı, deri bulguları, eklem tutulumu, amiloidoz varlığı ve hastalığı kontrol etmek için gerekli kolşisin dozuna göre puanlama esasına dayalı olan Tel-Hashomer hastalık ağırlık skoru kullanılmaya başlanmıştır (70).

1- Hastalık başlangıç yaşı:

<5 yaş = 3 puan

5-10 yaş = 2 puan

10-20 yaş = 1 puan

>20 yaş = 0 puan

2- Atak sıklığı:

Ayda 2 ataktan fazla = 3 puan

Ayda 1-2 atak = 2 puan

Ayda 1 ataktan az = 1 puan

3-Atakları kontrol etmek için gerekli kolşisin dozu:

Kolşisine cevapsız olanlar = 4 puan

2 mg/gün = 3 puan

1,5 mg/ gün = 2 puan

1 mg/gün = 1 puan

4- Artrit:

Uzamış artrit = 4 puan

Akut artrit atakları = 2 puan

5-Erizipel benzeri ertem:

Varsa = 2 puan

6-Amiloidoz:

varsa = 3 puan

Fenotip II = 4 puan

2-5 puan arası = Hafif hastalık, 6-10 puan arası= Orta hastalık, >10 puan = Ağır hastalık

2.10 Tedavi

İlk kez birbirinden habersiz olarak Goldfinger ve Emin Özkan tarafından 1972 yılında kolşisinin FMF ataklarının önlenmesinde etkili bir ilaç olduğu bildirilmiştir (7). Colchium, çayır safranının latince adı olup, Karadeniz'in doğu kıyısında eski adı Colchis olan yerde yetişen bitkiden elde edilir. İlk kez 6. yüzyılda gut hastalığı için kullanıldığı sanılmaktadır (71).

Kolşisinin hangi mekanizma ile FMF ve amiloidozda etki gösterdiği kesin olmamakla beraber, antiinflamatuvar, antimitotik, apoptotik ve antifibrotik etkileri olduğu bilinmektedir (72). Polimorf nüveli lökositler tarafından sitokin yapımını düzenlediği ve nötrofillerde alfa selektin ve damar endotelinde e-selektin salınımını değiştirdiği sanılmaktadır (72). Lökosit kemotaksisini, ekstraselüler boşluğa kollajen transportunu, mitoz için gerekli olan intraselüler fibriler yapıların yerleşimini ve motilitesini engeller (57). FMF'li hastaların periton ve diğer serozal sıvıları incelendiğinde C5a inhibitörünün azaldığı saptanmıştır. C5a nötrofillerin o bölgeye kemotaksisini sağlar. FMF'deki kontrolsüz olarak artmış olan inflamasyondan C5a inhibitör eksikliğinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kolşisinin ise bu inflamasyon sürecinin başlangıcında C5a salınımını önlediği ve bu şekilde etki ettiği sanılmaktadır (7).

Randomize, plasebo kontrollü çalışmalar ile 1-3 mg/gün kolşisin kullanımının FMF ataklarının önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (73). Hastaların yakınmalarında belirgin azalma ve çoğunda da atakların tamamen geçtiği gözlenmiştir. Bu tedavinin 16 yaşın altındaki hastalarda da etkili olduğu ve çocukların gelişimi ve fertilitiyi engellemediği saptanmıştır (74). Bazı hastalarda kolşisin dozu 0,5 mg/gün yeterli olmakla birlikte genellikle amiloidozun önlenmesi için 1,5-2 mg/gün dozda kullanılması önerilmektedir (75).

İlacın aralıklı kullanımı akut atakları bazı hastalarda önleyebilmekle beraber amiloidozun önlenmesi için kolşisinin sürekli kullanılması şarttır (58). Amiloidozu olmayan 960 İsraili hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, düzenli olarak 11 yıl boyunca kolşisin kullanan 906 hastada amiloid gelişimi % 2 bulunurken, 9 yıl boyunca düzensiz aralıklarla kolşisin kullanan 54 hastada % 45 oranında amiloidoz saptanmıştır (76). Proteinürisi olan FMF hastalarına, protein kaybını azaltmak için kolşisin tedavisi başlanması önerilmektedir (77).

Kolşisin tedavisine yanıtındaki kişisel farklılıkların genetik yatkınlık ve çevresel faktörlere bağlı olduğunu bildiren birçok çalışma vardır (58). Ancak temel olarak kolşisinin etkinliği 3 faktöre bağlıdır. Bunlardan ilki tedaviye başlanma anındaki böbrek hastalığının

durumudur. İkinci faktör ilaç dozu olup, atakları önlemek için daha küçük dozlar yeterli olabilmesine karşın amiloidozu önlemek için en az 1 mg/gün kullanılması gerekir. Üçüncü faktör ise tedaviye başlanıldığı andaki histopatolojik bulgulardır (58).

Kolşisin FMF tedavisinde başarıyla kullanılmakla beraber yan etkileri de bulunan bir ilaçtır. Kolşisin kullanan hastaların büyük çoğunluğunda diyare ve dispeptik belirtiler görülür. Kolşisin dozu yavaş yavaş artırıldığında bu yan etkilerinde daha az ortaya çıktığı saptanmıştır. Bir çalışmada da kolşisinin FMF hastalarında laktoz intoleransına yol açtığı gösterilmiştir. Bu hastalara laktozdan fakir diyet verilmesi semptomları azaltmıştır (78).

Bazı sık rastlanmayan yan etkilerde ortaya çıkmıştır. Özellikle yaşlı ve böbrek fonksiyonu iyi olmayan FMF hastalarında kolşisine bağlı kreatinin kinaz aktivitesindeki artışla birlikte miyopati ve nöropati gelişebildiği bildirilmiştir (78). Ayrıca kolşisinin erkekte sperm sayısını azalttığı ve ilacın kesilmesi ile sperm sayısında tekrar artış olduğu bilinmektedir (79). Kadınlarda ise konsepsiyonu etkilemediği düşünülmektedir (52). Hamilelikte kullanımında kolşisinin trizomi 21 veya başka kromozomal anomaliye neden olduğu hiçbir çalışmada gösterilememiştir (52). Laktasyon sırasında süte geçen miktar çok düşük olduğundan emzirme döneminde ilacın kesilmesine gerek yoktur (80).

İntravenöz kolşisin kullanımında daha sık toksik etkiler görülmüştür. Bu yüzden intravenöz kullanım yalnızca ameliyat öncesi ve sonrasında ve oral alamayan hastalarda tercih edilmelidir (81).

3. FMF GENİ: MEFV

3.1- MEFV' in Pozisyonel Klonlanması

FMF geni 1997 yılında iki ayrı grup tarafından tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi Dr. Daniel Kastner başkanlığındaki Uluslararası FMF birliği, diğeri ise Fransız FMF birliğidir. (2) Bu iki grup 1997 yılı içerisinde yakın aralıklarla pozisyonel klonlama yöntemini kullanarak FMF geninin varlığını buldular. Bu yöntem, genin bulunduğu kromozomun belirlenmesi ve daha sonra genin bulunduğu düşünülen bölgenin kromozom üzerinde giderek saptanması esasına dayanır.

Genin saptanmasında ilk basamak marker (işaretleyici) kullanılarak kromozomun belirlenmesidir. Marker'lar nükleotid dizisi belirlenmiş olan oligonükleotidlerdir. MEFV geninin bulunduğu kromozomun saptanması olan ilk basamak Uluslararası FMF Birliği tarafından 100'den fazla polimorfik işaretleyicinin Sefardik Yahudi ailelerden alınan kan örneklerinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçta MEFV geninin 16.

kromozomun kısa kolunda, hemoglobin- α genine göre sentromerik yerleşimli olduğu saptanmıştır (82). Aynı genetik yerleşim daha sonra Sefardik Yahudiler, Ermeniler, Araplar ve Türkler’de gösterilmiştir (59).

MEFV geninin tam yerinin belirlenmesi için bir milyon baz çiftinden oluşan bölgenin tam ve detaylı haritası çıkarılmıştır (83). MEFV geninin bulunduğu düşünülen aralığı D16S468/D16S3070 ve D16S3376 arasında yer alan 265 kb’lık bir bölge ile sınırlanmıştır (84). Her iki grup da “exon amplification” (ekson çoğaltılması) ve “genoik sequencing” (genom dizini çıkarılması) yöntemlerini kullanarak 16. kromozomun bu bölgesinde yer alan tüm genleri belirlemişlerdir. Bu bölgede Kastner ve ark. 10 ekson büyüklüğünde 3505 nükleotidden oluşan ve 781 amino asitli bir proteini kodlayan bir cDNA belirlemişlerdir (11). Bu gen üzerinde ilk saptanan mutasyon 10. ekson üzerinde 694. kodonda metionin yerine valinin geçtiği (M694V) mutasyondur. Bu mutasyon Irak Yahudileri, Ermeniler, Araplar ve Türkler’e ait taşıyıcı kromozomlarda daha sık saptanmıştır (11).

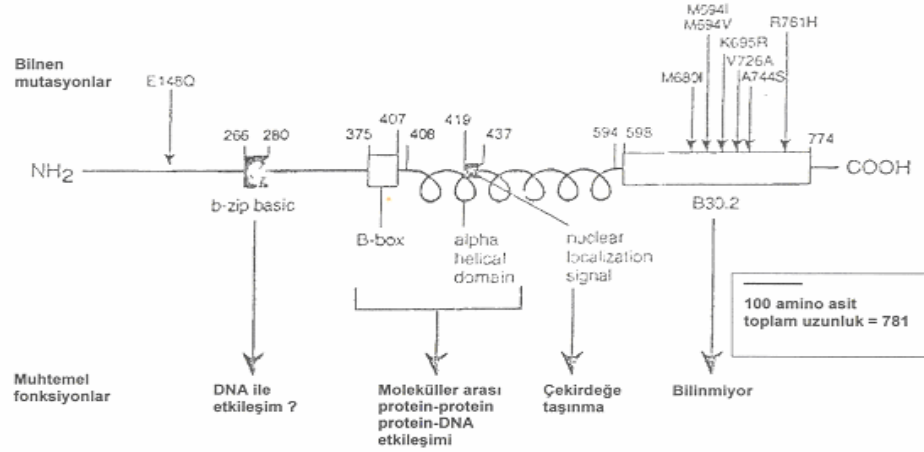
İkinci olarak saptanan mutasyon, 10. ekson üzerinde 726. kodonda bulunan valinin yerine alaninin geçtiği (V726A) mutasyondur. Üçüncü olarak yine 10. ekson üzerinde 680. kodonda Metiyonin yerine İzolösün’nin geçtiği (M680I) mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyonları takiben 694. kodonda Metionin yerine İzolösünin geçtiği (M694I) mutasyonu, A744S (Alanin yerine Serin), R761H (Arginin yerine Histidin), E148Q (Glutamin yerine Glutamik asit) ve P369S (Prolinin yerine Serin) mutasyonları bulunmuştur (11).

MEFV geninin belirlenmesi FMF’in tanısı için moleküler genetik çalışmalara olanak sağlamıştır. Gerçekleştirilen tanı testleri non-invaziv olup klinik sendrom öncesinde hastaların tanısını sağlamada önemli rol oynamaktadır. Moleküler genetik testler FMF hastası olduğu daha önceden bilinen hastaların risk taşıyan kardeşlerinin belirlenmesi ve kolşisin tedavisine zamanında başlanması bakımından da önem taşımaktadır (85).

3.2- PİRİN / MARENOSTRİN PROTEİNİ

MEFV geni tarafından kodlanan proteine Uluslararası FMF Birliği hastalığın ateş ile birlikteliği nedeniyle pirin, Fransız FMF Birliği ise Akdeniz’in Latincesinden, -Mare nostrum (bizim deniz)-, yola çıkarak marenostrin adını vermişlerdir (2,11). Pirin’in tam fonksiyonu bilinmemekle birlikte, protein dizisinin analizi sonrasında çekirdeğe ait bir faktör olduğu düşünülmektedir. Pirin adlı bu proteinin inflamasyonla ilgili protein transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir (86).

PİRİN PROTEİNİ



Şekil : Pirin'in bilinen fonksiyonları. Proteinin amino ve karboksî ucu NH₂ ve COOH olarak gösterilmiştir. Protein segmentleri üzerindeki numaralar primer proteinin yapısındaki aminoasitlerin pozisyonunu göstermektedir.

Şekil 3: Pirin Proteini

3.3- PİRİN ve MARENOSTRİN ve FMF' in PATOFİZYOLOJİSİ:

mRNA örneklerinin Northern Blot analizi ile çok sayıda normal doku örneğinde MEFV ekspresyonunun sadece periferik kan lökositlerinde bulunduğu saptanmıştır. Kastner ve ark. MEFV geninin sadece lenfosit olmayan beyaz küre hücrelerinde ekspres olduğunu öne sürmüşlerdir (86). Lökositler içinde de FMF ataklarının da rolü olan MEFV ekspresyonunun sadece nötrofillerde olduğu, lenfosit ve monositlerde bulunmadığı saptanmıştır (11).

Kastner ve ark. FMF'in inflamasyonla karakterize bir hastalık oluşu, MEFV geninin yalnızca nötrofillerde ekspres olması ve pirin'in hücre çekirdeğine ait bir protein olmasına dayanarak pirinin fonksiyonu ve FMF mutasyonlarının etkilerine ait bir şema geliştirmişlerdir (Şekil 2) (86). Bu hipoteze göre pirinin normal işlevi nötrofil kaynaklı inflamasyonun, yine nötrofiller düzeyinde baskılanmasıdır (down regülasyon). Pirin nötrofillerin proinflamatuvar bir molekülünün transkripsiyonel baskılayıcısı veya antiinflamatuvar bir molekülün artırıcısı (up-regülasyon) olabilir. Her iki durumda da FMF'nin resesif olarak geçiş göstermesi mutasyonların fonksiyon kaybına neden olduğunu düşündürmektedir (86).

Atakların dokuya özgü olması, bazı hücre dışı ajanların serozal veya sinovyal membranlara tropizm göstermesi ya da pirinin serozal veya sinovyal vasküler yatakları hedef alan bir yapışma (adezyon) molekülünün ekspresyonuna neden olduğu varsayımı ile açıklanabilir (86).

4.GENETİK TANI

Tipik klinik özellikleri taşıyan ve etnik kökeni uygun olan hastalarda tanı genetik doğrulama olmadan da konulabilir, ancak atipik klinik bulgularla ortaya çıkıp aile öyküsü bulunmayan ya da etnik kökeni uygun olmayan hastalarda genetik analiz tanıyı doğrulamak için gerekebilir (57).

Kesin tanı için MEFV geninde her iki alelde de mutasyonun olması gerekmektedir. Ancak günümüzde 55'in üzerinde mutasyon tanımlanmasına rağmen pek çok merkezde bunlardan yalnızca sık görülenler bakılmaktadır. Dolayısı ile klinik olarak kuvvetle FMF düşünülen hastada bakılabilen bu mutasyonlar bir ya da iki alelde negatif bile olsa klinik tanı kesin kabul edilir ve tedaviye başlanır. Şüpheli kliniği olanlarda her iki alelde mutasyon varlığı ile tedaviye karar verilir (87).

FMF'li hastaların aile taramalarında asemptomatik kişilerde mutasyonların iki alelde de taşınabildiği gösterilmiş ve farklı araştırmacılar tarafından farklı öneriler ortaya atılmıştır. Bir grup araştırmacı FMF kliniği ortaya çıkmamış olsa bile özellikle M694V homozigotluğu gibi amiloidozla ilgili olduğu düşünülen durumların tedavisini, diğer bir grup araştırmacı ise tedavisiz takibini önermektedir. Daha çok kabul gören görüş klinik bulguların ve aile öyküsünün mutasyon analizinden daha önemli olduğu, genetik tanının destekleyici unsur olduğu yönündedir (87).

4.1. DNA İZOLASYONU

DNA ekstraksiyonu moleküler analizde önemli bir adımdır. DNA ekstraksiyonunda kullanılan protokoller sıvı veya katı faz ekstraksiyonları olarak sınıflandırılabilir. Katı faz yöntemler, göreceli olarak daha kolay yapılabilmesi, yüksek tekrarlanabilirliği ve otomasyona uygunluğu nedeniyle daha sık kullanılmaktadır. Sıvı bazlı yöntemler çok miktarda DNA gerektiğinde ve geniş örnek hacimlerinde kullanılır (88).

Hücreden DNA izolasyonunu sağlayan yöntemlerin çoğunun çalışma ilkesi DNA ekstraksiyon protokolünün ilk basamağı olan hücre lizisidir. Hücre lizisi; bir proteaz yardımıyla proteinlerin yıkılması ve nükleik asitlerin yüksek tuz derişimi varlığında santrifüjle çöktürülmesidir (89). Nükleik asit iskeletindeki fosfat esterleri kuvvetli asit

olduklarından nötral pH'da anyonik davranırlar, DNA alkol ilavesi ile de çöktürülebilir. DNA presipitatu izole edilip, rehidrate edilir. İnsanda hücre kaynağı olarak kullanılan dokular genelde kolay ulaşılabildiği için kan ve yanak mukozasıdır. Kan içerisindeki lökositler ve mukoza hücreleri içindeki DNA miktarı PCR analizi için fazlasıyla yeterlidir. Elde edilen DNA ekstraktı analize kadar saklanabilir. Sıvı bazlı protokollerde hücre ve protein debrisleri çözücü ekstraksiyonu ile çözünen DNA fraksiyonundan ayrılır (89).

Katı fazlı ekstraksiyon yöntemlerinde ise silika membranlar veya manyetik partiküller kullanılır. Hücre yıkımı ve protein yıkımından sonra DNA alkol ile çöktürülür. Solüsyon daha sonra, DNA'yı bağlayan ve saflaştırın silikalı filtrelerden geçirilir. Bağlı DNA nükleaz içermeyen su veya düşük iyonik kuvvetli tamponlar kullanılarak yıkanır ve elüe edilir. Benzer şekilde manyetik partiküllerin kullanıldığı yöntemde, alkolle çöktürülmüş DNA molekülleri manyetik bir alan altında manyetik boncuklarla kaplanır, ardından bu boncuklar saf DNA'dan ayrılır (88).

4.2. PCR:

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, hızlı ve çok yönlü bir metod olup hedef DNA dizilerinin çoğaltılarak tanımlanmasını sağlar. PCR tekniği ile DNA çoğaltılması için tepkime karışımında; çoğaltılacak DNA, bu DNA'da çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucundaki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlanacak olan sentetik DNA primerleri, bu DNA primerlerine bağlanıp bunlara 3'ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan ısıya dayanıklı DNA polimeraz, sentezde kullanılacak olan deoksinükleotid fosfatlar (dNTP'ler; A, C, G, T) polimerazın çalışması için uygun pH ve iyon şartlarını (Mg^{++}) sağlayan tampon karışımı gereklidir (90). Mg^{+2} , deoksinükleotid trifosfatlarla kompleksler oluşturarak DNA polimerazın aktivitesini ve DNA'nın T_m değerini (erime ısısı) artırır. İdeal olarak 0,5-3,0 mM derişimde kullanılır. Mg^{+2} konsantrasyonu, primerlerin bağlanmasını, enzimin etkinliğini, ürünün özgülüğünü artırır (88).

PCR reaksiyonunda, çoğaltılacak hedef gen bölgesi seçildikten sonra ilk adım yüksek ısı ile DNA'nın iki zincirini birbirinden ayırma evresi olan denatürasyondur. İnsan genomik DNA'sı için 94-98 °C uygundur. Denatürasyon süresi ayarlanırken DNA polimerazın yarı ömrü dikkate alınmalıdır. Taq polimerazın yarı ömrü 92,5 °C'de 2 saatin üzerinde, 95 °C'de 40 dakika, 97 °C'de 5 dakikadır (90).

Bir sonraki adım; çoğaltılacak olan bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen 5'ucuna komplementer 18-20 baz uzunluğundaki bir çift sentetik oligonükleotidlerin 37-65°C

arasında hedef DNA'ya bağlanmasını sağlamaktır. Primer bağlanması için gerekli ısı sadece DNA/DNA eşleşmesine imkan sağlayacak kadar yüksek olmalıdır (90).

Son adım da; 72 °C'de ortama eklenen dNTP'lerle çift iplikçikli DNA'ların sentezi (polimerizasyonu) sağlanır. Polimeraz yardımıyla tek iplikli DNA kalıplarına bağlanan primerlerin 5' den 3' yönüne uzatılmasıdır. Bu üç adım bir PCR siklüsünü oluşturur. Bu olayın 20-30 kez tekrarlanması sonucu bir DNA hedefini çok sayıda çoğaltmak mümkün olur (90).

PCR ürünlerinin incelenmesinde değişik moleküler teknikler bulunmaktadır. Bunlardan birisi sıkça kullanılan PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimleri ile muamele edilerek incelenmesidir. Restriksiyon endonükleazlar (RE) çok uzun çift sarmal DNA moleküllerini spesifik parçalara kesen ve bu şekilde DNA'yı manipule etmeyi mümkün kılan çok önemli enzimlerdir. Bakterilerin büyük bir bölümü bir veya birkaç türde RE sentezlerler. Esas görevleri dışardan bakteriye giren ve bazı özel gen veya markerları taşıyan genetik materyalleri ayırıştırarak mutasyonlara mani olmak ve türlerin genetik yönden stabilitesini korumaktır. Bu gerçekte bir çeşit savunmadır. Bakteriye özgü bu enzimler çift sarmallı DNA üzerinde özgün bir bölgeyi tanırlar ve çift sarmallı DNA'nın her iki zincirindeki fosfodiester bağımlı keserek DNA'yı iki parçaya ayırırlar. Bu enzimlerin birçoğunun tanıdığı bölge palindromiktir (tekrar geri dönen). Yeni oluşan bölgeler iki yönlü olarak simetrik. İzomerler ise; farklı mikroorganizmalardan elde edilip, DNA üzerinde aynı diziyi tanıyıp kesen RE'lerdir (90).

Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP):

PCR-RFLP moleküler yöntemi, MEFV geni mutasyonlarının tanısında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle mutasyonun araştırılacağı gen bölgesinin belirli bir kısmı, mutasyonlu bölgeyi de içine alacak şekilde PCR tekniği ile çoğaltılır. Elde edilen belirli uzunluktaki genomik DNA parçası, araştırılacak mutasyona özgü olan restriksiyon endonükleaz enzimi ile muamele edilerek kesilir ve kesim ürünleri, DNA parçasının büyüklüğüne göre belirli bir konsantrasyondaki agaroz ya da poliakrilamid jelde elektroforez işlemine tabi tutulur ve jel etidyum bromid ile boyanıp UV ışıkta resimlenerek mutasyonun varlığına/yokluğuna karar verilir. Burada ilgili gen bölgesindeki bir nokta mutasyonu, ya restriksiyon enzimi tanıma bölgesi yaratarak amplifiye DNA'nın o noktadan kesilmesine veya bunun tersine restriksiyon enziminin kesim noktasının kaybına neden olur.

4.3. ELEKTROFOREZ:

Elektroforez, bağımsız nükleik asitlerin moleküler ağırlık ve şekillerine göre fiziksel ayırımını sağlar (89). Elektroforez DNA ve RNA analizinde en sık kullanılan yöntemdir. DNA ve RNA negatif yüklüdür ve uygun bir tampon solüsyonunda anoda doğru göç eder. Çözünmüş durumdaki yüklü moleküller bir destek doku içine (jelle) yüklenip elektrik akımı altında yürütülürse büyüklükleri, yükleri ve biçimlerine göre farklı hızlarda hareket ederler.

Elektroforez olarak bilinen bu yöntemle yukarıdaki her üç basamakta da elde edilen ürünler (genomik DNA, PCR ürünü ve endonükleaz kesim ürünü) görüntülenebilir. Moleküler uygulamalarda genelde agaroz ve poliakrilamid jeller kullanılır. Genotiplemede çoğu durumda agaroz jel kullanımı yeterlidir. DNA izolasyonunun başarılı olup olmadığını görmeyen en basit şekli % 0.8-1'lik agaroz jel içinde yürütmektir. Benzer şekilde PCR ürünü alınıp alınmadığı PCR sonunda tüpten alınacak 10-20 mikrolitrelik bir örneğin %1-2'lik agaroz jel içinde yürütülmesi ile anlaşılabilir. PCR sonrası endonükleazla kesim ürünlerinin analizi ise daha yoğun hazırlanmış (% 3-6'lük) agaroz jellerde yapılır. Kesim ürünleri bu yoğunlukta 1-2 saat yürütülme sonrasında birbirinden ayrılır. Agaroz katı halde toz olarak temin edilir. Jel hazırlanırken bir tampon çözelti içinde yüksek sıcaklıkta kaynatılarak (örneğin bir mikrodalga fırın içinde) eritilir. Hazırlanan eriyik yatay elektroforez tepsisine dökülerek yarı katı duruma geçip jel oluşturana dek soğumaya bırakılır. Eriyik jel tepsi içine dökülmeden önce örneklerin yükleneceği kuyucukların oluşması için çok dişli bir tarak tepsi üzerindeki yuvasına yerleştirilmelidir (89).

Elektroforez tankının içine konulacak elektrolit sıvısı olarak genelde TAE (tris asetik asit-EDTA) ve TBE (tris borik asit-EDTA) çözeltileri kullanılır. Jel içinde yürütülen DNA'nın gözlenmesi veya görüntülenmesi için DNA molekülünün uygun şekilde boyanması gerekir. Bu amaç için en sık etidyum bromür (EtBr) kullanılır. EtBr DNA bazları arasına girer ve ultraviyole ışık altında flüoresan ışık yayar. Bu madde jelin içine agaroz eritilirken eklenebilir veya elektroforez sonrası jel, EtBr içeren bir solüsyonda bekletilebilir. EtBr mutajen olduğu için bu işlemler sırasında EtBr içeren buharın solunmaması ve deriye temas etmemesi için gerekli önlem alınmalıdır. Etidyum bromür ile işaretlenmiş DNA molekülleri ultraviyole ışık kaynağı olan transilüminator üzerinde gözlenebilir ve fotoğraf makinası aracılığı ile kaydedilebilir (89).

5-MATERYAL VE METOD:

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Polikliniklerine gelen Tel-Hashomer tanı kriterlerine göre FMF tanısı almış olan 47 hastada FMF'in en sık görülen 3 mutasyonu (M694V, M680I ve V726A) çalışıldı ve değerlendirildi. Bu hastalardan K₃ EDTA' lı tüpler içerisine 3 cc kan alındı. Bu kanlar +4 °C'de saklandı. Kanlar G-DEX Iib (Genomic DNA Extraction Kit/Korea) kiti ile ekstraksiyon yapıldı.

Ekstraksiyon İşlemi:

1. 200 µl tam kan 1,5 ml'lik eppendorf tüp içerisine konuldu ve üzerine 500 µl RBC lysis buffer eklendi, 5 dakika oda ısısında bekletildikten sonra tekrar karıştırıldı ve 5 dakika daha bekletilerek 5.000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapıldı (Eppendorf Centrifuge 5417 C).
2. Supernatan mikropipetle alınıp atıldı, alt kısımda beyaz küre hücreleri bulunmaktadır.
3. Tekrar 500 µl RBC lysis buffer ilave edilerek karıştırıldı, 5 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 5.000 rpm'de 8 dakika santrifüj yapıldı.
4. Üstte kalan kısım dökülerek üzerine Cell lysis buffer ilave edilerek oda ısısında bir gece bekletildi.
5. Bekleme süresi sonunda 70 µl Protein PPT buffer ilave edildi. Bütün tüpler 20 sn vortekslendi.
6. 14.000 rpm'de 4 dakika santrifüj yapıldı, eğer görünüm berrak ise 300 µl isopropanol eklendi ve nazikçe karıştırıldı.
7. Sonrasında 14.000 rpm' de 3 dakika santrifüj yapıldı, üst kısımları atılarak tüpler kurutuldu.
8. 200 µl % 70µl'lik etanol konuldu, DNA hareketi görülene kadar karıştırıldı.
9. Tüpler 14.000 rpm' de 3 dakika santrifüj yapıldı, üst kısmı dökülerek tüpler kurutuldu.
10. 80 µl DNA rehydration solüsyonu ilave edilerek 67 °C' de 1 saat bekletildi.
11. DNA kullanıma hazır olarak -20 °C'de bekletildi.

Elde edilen DNA örneklerinden exon 10'da yer alan 3 mutasyon M694V, V726A ve M680I mutasyonları PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı.

Çalışmada uyguladığımız PCR metodunda her bir mutasyon için farklı basamaklar kullanıldı. M694V ve V726A için;

1. basamak 94 °C
2. basamak
 - a. 94 °C
 - b. 60 °C
 - c. 72 °C

a, b ve c basamakları 3. basamağa geçilmeden 34 kere tekrarlandı.

3. basamak 72 °C

M680I için;

1. basamak 94 ° C
2. basamak
 - a. 94 ° C
 - b. 56 ° C
 - c. 72 ° C

a, b ve c basamakları 3. basamağa geçilmeden 36 kere tekrarlandı.

3. basamak 72 ° C

PCR için kullandığımız primerler ve enzimler;

M694V F ACT CTG TCG CCA GAG AAT GGC TAC TGG GTG GAG ATA ATG,

M694V R GTC AGG CCC CTG ACC ACC CAC TGG ACAG,

M694V için Hph 1,

V726A F ACC CGC CTG CTA ATA AAG GAG CCT CCC AAG CG,

V726A R GAA GAT AGG TTG AAG GGG CCC AGA GAA AGA GCA GCT GAC,

V726A için Alu 1,

M680I F TGA TCT GAA GAG TGT TAG ACT TGGA,

M680I R CAG GAA GAG AGA TGC AGT GTTG,

M680I için Hinf 1,

PCR ile çoğaltma işleminde her bir numune için Promega ready mixten 7,5 µl ve distile sudan 7,5 µl, her bir mutasyonun kendine ait Primer R ve Primer F'inden 1,2 µl ve DNA örneklerinden 3 µl konarak her bir mutasyon için belirlenen programlarda PCR yapıldı.

PCR ürününden 5 µl alındı ve her biri için belirttiğimiz enzimler kullanıldı. 37 °C'de 1,5 saat bekletilerek mutasyon olan bölgeden enzim yardımıyla kesme işlemi

gerçekleştirildi. Kesme işleminden sonra örnekler % 1,2'lik agaroz jele aplikle edilerek, 1X TAE tamponunda 1-1,5 saat yürütüldü ve EtBr ile boyanarak UV ışıklı görüntüleme sistemi ile resimleri çekilerek mutasyonlar değerlendirildi.

Değerlendirmede;

M694V mutasyonunda normal bandlar 300 bp (baz çifti), heterozigotta 300 ve 200 bp'de çift band, homozigotta 200 bp'de tek band olarak görüntüledi.

V726A mutasyonunda normal bandlar 150 bp, heterozigotta 150 ve 100 bp'de çift band, homozigotta 100 bp'de tek band olarak görüntüledi.

M680I mutasyonunda normal bandlar 800 bp'de PCR sonrası band görülürken kesme işlemi sonrasında negatiflerde 500 ve 300 de iki band, 800 bp'de band olması homozigot, 800, 500 ve 300 bp seviyesinde band heterozigot olarak görüntüledi.

6.BULGULAR:

Çalışmaya alınan 47 FMF'li hastanın 20'si kadın (% 42.55) ve 27'si erkek (% 57.45) idi. Bu hastaların cinsiyete ve yaşlara göre dağılımı Tablo III'de gösterilmiştir.

Tablo III: Hastaların cinsiyet ve yaşlara göre dağılımı

	Kadın		Erkek	
	n	%	n	%
<5 yaş	1	2.13	0	0
5-20 yaş	12	25.53	21	44.68
20-40 yaş	7	14.89	4	8.51
40-60 yaş	0	0	2	4.26
Toplam	20	42.55	27	57.45

Hastalarda klinik olarak en sık yakınma karın ağrısı (% 95.7) ve ateş (% 91.5) iken artrit/artralji (% 53.2) ve Erizipel benzeri eritem (% 10.6) izlenmekteydi (Tablo IV)

Tablo IV: Hastaların klinik özellikleri

Özellikler	Hasta	%
Karın ağrısı	45	95.7
Ateş	43	91.5
Artrit/artralji	25	53.2
Erizipel benzeri eritem	5	10.6

Hastalardan 2'sine apendektomi ameliyatı yapılmıştı. Hastalardan 3'ünde idrarda proteinüri vardı.

Çalışma grubumuzdaki hastalarda M694V mutasyonu 26 kişide % 55.32, M680I mutasyonu 7 kişide % 14.9 ve 1 hastada M694V/M680I birleşik heterozigot mutasyonu ve 1 hastada da V726A/M680I birleşik heterozigot mutasyonu saptandı. V726A/V726A homozigotluğuna ise rastlanmadı. 12 hastada (% 25.53) ise baktığımız üç mutasyondan herhangi birine rastlanmadı. (Bkz. Tablo V)

Tablo V: MEFV mutasyonlarının dağılımı

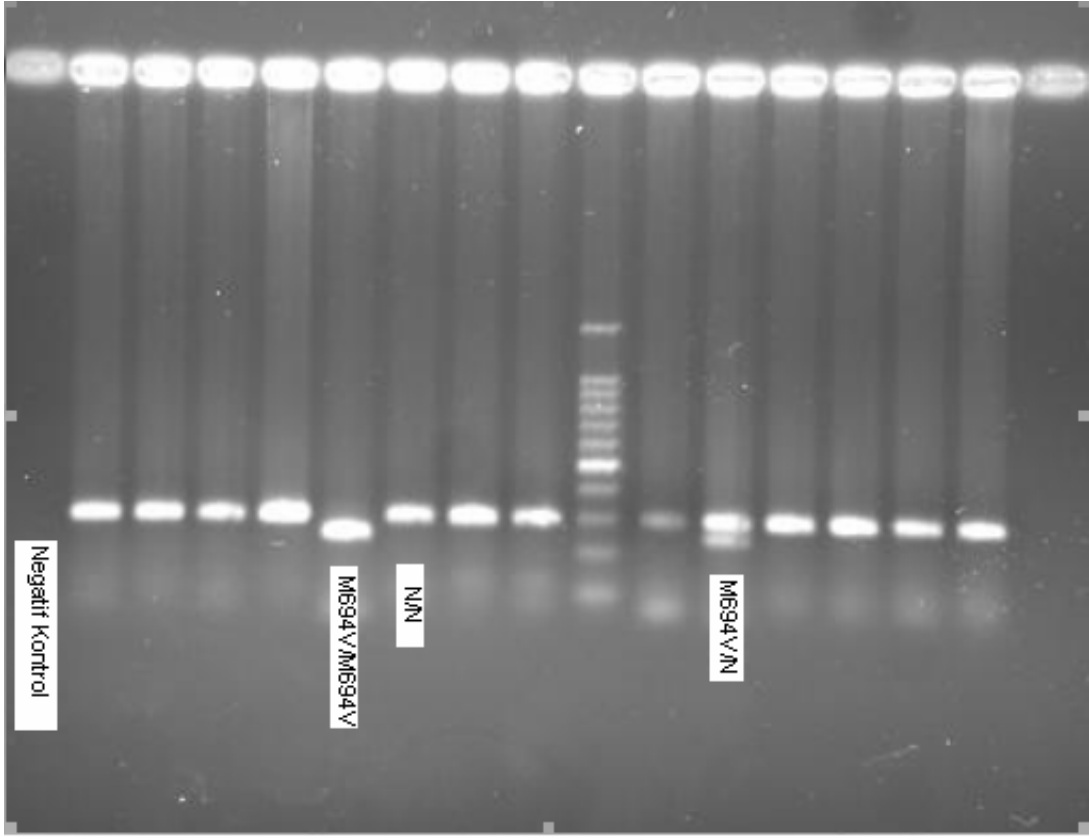
Mutasyon tipi	Hasta	%
M694V/M694V	16	34.04
M694V/N	10	21.27
M680I/M680I	6	12.77
M680I/N	1	2.13
V726A/M680I	1	2.13
M694V/M680I	1	2.13
Toplam belirlenen	35	74.47
Belirlenemeyen	12	25.53
Genel Toplam	47	100

Sonuç olarak FMF tanısı almış olan 47 hastanın 35'inde (% 74.5) FMF'in en sık görülen 3 mutasyon tipi tespit edildi. Mutasyon tespit edilen 35 hastanın 17'sini erkekler, 18'ini kadınlar oluşturmaktaydı.

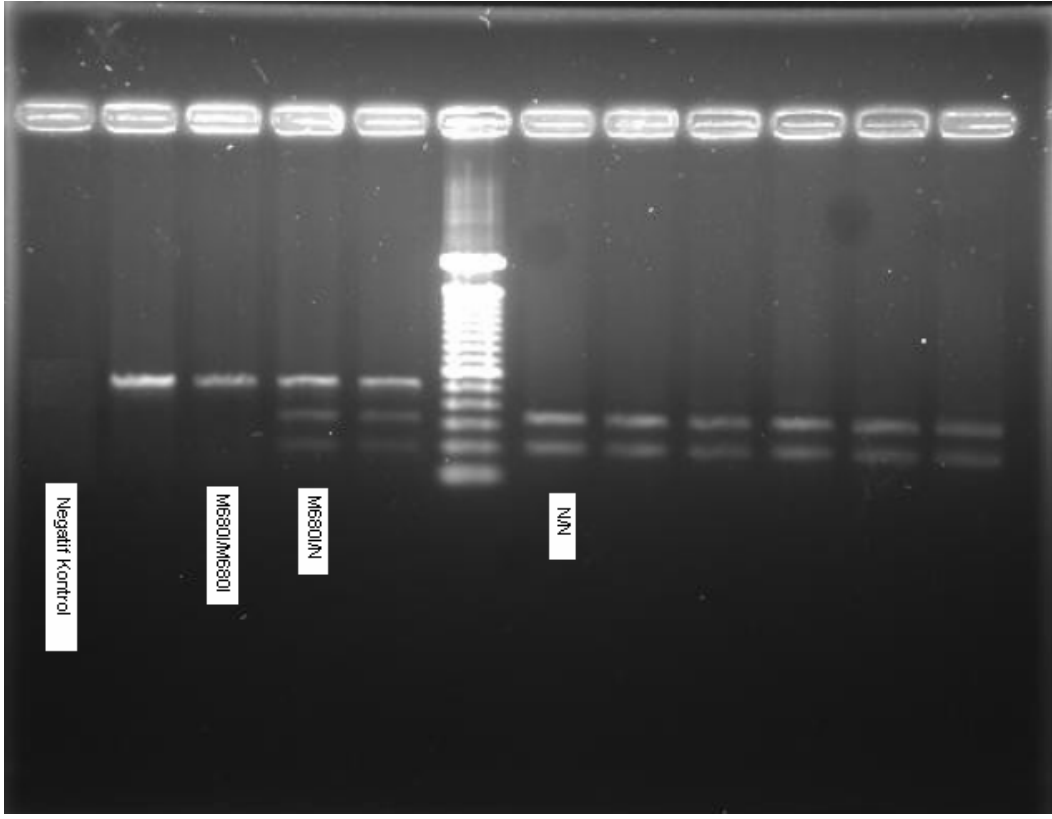
Mutasyonların cinsiyetlere göre dağılımı ise Tablo VI'de özetlenmiştir.

Tablo VI: Mutasyonların cinsiyetlere göre dağılımı

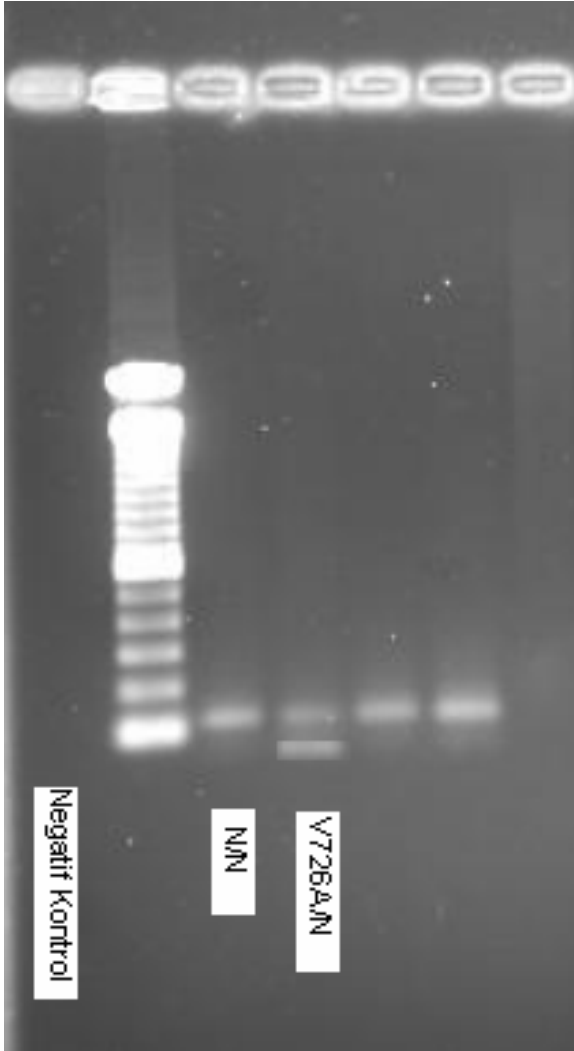
Mutasyon	Kadın	%	Erkek	%
M694V/M694V	8	17.02	8	17.02
M694V/N	4	8.51	6	12.77
M680I/M680I	3	6.38	3	6.38
M680I/N	1	2.13	0	0
M694V/M680I	1	2.13	0	0
V726A/M680I	1	2.13	0	0
Belirlenemeyen	2	4.25	10	21.28
Toplam	20	42.55	27	57.45



Şekil 4: M694V mutasyonunun agar jel görüntüsü



Şekil 5: M680I mutasyonunun agar jel görüntüsü



Şekil 6: V726A mutasyonunun agar jel görüntüsü

TARTIŞMA:

FMF; daha çok Yahudiler, Ermeniler, Araplar ve Türkleri etkileyen otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Bu toplumlarda taşıyıcı sıklığıda oldukça yüksektir. Ashkenazi olmayan Yahudilerde 1/5-1/7 iken (90); Kaliforniyada yaşamakta olan Ermenilerde 1/7 (91) Türklerde de 1/5 oranında bildirilmektedir (4).

Bu mutasyonlardan Yahudiler, Türkler ve Ermeniler'de en sık saptanan M694V mutasyonudur. Diğer sık gözlenen mutasyonlar, Ermenilerde daha sık görülen M680I, Araplarda daha sık gözlenen M694I, Avrupalılarda ve Türk taşıyıcılarda en sık saptanan ve orta şiddette hastalık ile ilgili olan E148Q ile yine orta şiddette hastalık ile ilgili olan V726A'dır (92).

M694V mutasyonu, Ashkenazi olmayan Yahudiler, Türkler, Araplar ve Ermenilerde en sık gözlenen mutasyondur (93). Kuzey Afrikalı Yahudilerde % 97 oranında taşıyıcı kromozomda gösterilirken, Iraklı Yahudilerde % 30, Ermenilerde ise % 25 oranında bulunmuştur. Riva Brik ve arkadaşlarının İsraili 67 çocuk üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada Yahudi kökenli çocuklarda (Kuzey Afrika veya Iraklı Yahudiler) M694V mutasyonunu en az bir alleli üzerinde taşıyan çocukların % 92 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada Arap çocuklarda (Hristiyan, Müslüman, Dürzi) M694V mutasyonunun % 30 oranında görüldüğü, diğer üç mutasyonun (M680I, V726A, M694I) ise bu çocuklar arasında eşit oranda dağıldığı gösterilmiştir (94).

Touitou, 2001 yılında yayınlanan bir çalışmasında, değişik popülasyonlarda MEFV gen mutasyon sıklıklarını incelemiştir. 1301 Yahudi hastada en sık görülen mutasyon % 65 ile M694V olarak bulunmuş, bunu % 5 ile E148Q, % 3 ile V726A, % 1 ile M680I ve M694I mutasyonları takip etmiştir. Ermeniler'de ise 378 hastadan oluşan grupta, en sık mutasyon % 37 ile M694V bulunmuş. Bunu, % 21 ile M680I, % 19 ile V726A, % 3 ile E148Q ve % 2 ile M694I mutasyonları izlemiştir. Araplar'da 706 hasta içeren bir grupta, M694V % 20 ile en sık görülen mutasyon olurken, V726A % 14, M694I % 12, M680I % 7 ve E148Q mutasyonu % 6 sıklıkta gözlenmiştir. Türkler'de ise 1390 hastadan oluşan grupta, M694V % 45 sıklıkla en sık saptanan mutasyon olurken, M680I % 13, V726A % 11, M694I % 7 ve E148Q mutasyonu % 2 sıklıkta saptanmıştır (4).

Stoffman ve ark.'nın Yahudi toplumunda yapmış oldukları FMF mutasyon tarama çalışmalarında; sağlıklı bireylerde mutasyon tiplerini M694V % 29, V726A % 16, M680I % 2 ve E148Q % 53 olarak bulmuşlardır. Buna karşın hastalarda M694V % 84.4, V726A % 9, M680I % 0 ve E148Q % 6.6 değerindedir (95). Buna göre Yahudi toplumunda M694V görülme sıklığı toplumumuzdan daha yüksektir. Ancak M680I görülme sıklığı ise

toplumumuzdan daha azdır. Sağlıklı bireylerdeki E148Q sıklığı Yılmaz ve ark.'nın sağlıklı kişilerde buldukları sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Ortadoğu Araplarına bakıldığında sık görülen mutasyon tipleri V726A, M680I, M694V ve E148Q sırasıyla % 29.6, % 18.3, % 14.8, % 14.08 gibi bir sıralamayı izlediği görülmekteydi. Bu da bize Araplarda sıklıkla V726A mutasyonunun olduğunu göstermektedir. Araplardaki mutasyonların Türklerde ve Yahudilerde görülen mutasyon tiplerinden farklı bir oranda olduğu görülmektedir (96).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda genel olarak taşıyıcılık sıklığı açısından yeterli bilgiye sahip olmamamıza rağmen, farklı yörelerde yapılan genetik çalışmalarda bölgesel olarak taşıyıcılık oranından bahsedilmektedir. En geniş şekilde bilgilerin toplandığı Türk FMF Çalışma Grubu'nun 2005 yılında derlemiş olduğu verilere göre oldukça geniş hasta ve sağlıklı grup değerlendirilmiştir (1). Bu çalışmaya göre 1090 hastada genetik analiz yapılmış ve sıklıkla görülen mutasyon tipleri M694V % 51.4, M680I % 14.4 ve V726A % 8.6 oranında bulunmuştur (1). FMF Çalışma Grubu'nun yaptığı çalışmadan yola çıkarak bu üç mutasyon tipinin tayini ile hastaların büyük bir kısmında (bu üç mutasyon tipine bakılarak yaklaşık % 74 oranında mutasyon tipi tayin edilebilmekte) genetik tanı konulabileceği düşünülmektedir.

Tepecik Eğitim Hastanesi Doku Tipi ve Moleküler Tanı Laboratuvarında FMF tanısıyla MEFV gen mutasyon analizi araştırılmış ve en sık saptanan % 48.4 ile M694V mutasyonu bulunmuştur. E148Q mutasyonu % 16.5 sıklıkla izlenmiş, M680I % 13.5, V726A % 9.7 bulunmuştur (87).

Sağlık Bakanlığı Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Romatoloji polikliniğinde izlenmekte olan çocuk yaş grubundan 123 hastada sık görülen 3 mutasyon (M694V, M680I, V726A) tipi incelenmiş. En sık görülen genotip M694V/M694V olup sıklığı % 57,7, M680I/M680I % 5,7, ikinci sıklıkta bulunmuş ve V726A homozigotluğuna ise rastlanmamıştır (86).

Biz de, bunu göz önüne alarak en sık görülen üç mutasyon tipini araştırdık.

Sonuçlarımıza göre mutasyonlar arasında görülme sıklığı açısından oranlarımız; M694V % 55.32, M680I % 14.9 ve 2 hasta da % 4.26 birleşik heterozigot olarak bulundu. Birleşik heterozigotlar ise 1 hasta V726A/M680I ve 1 hasta da M694V/M680I idi. V726A/V726A homozigotluğuna ise rastlanmadı. Bu sonuçlar Türk FMF Çalışma Grubu'nun sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Türkiye'nin çeşitli yörelerinde yapılan çalışmalarda da Türk FMF Çalışma Grubu'nda belirtilmiş olan oranlara paralel sonuçlar olduğu bildirilmektedir. Güneşçar R.

ve ark. 90 hastada yapmış oldukları çalışmada Çukurova ve yöresinde en sık görülen mutasyonları M694V % 51.66, M680I % 17.22, V726A % 10.55 ve M694I % 1.66 gibi oranlarda bulmuşlardır (97). Orta Anadolu bölgesinde Akar ve ark. yapmış olduğu çalışmada mutasyon sıklıkları sırasıyla M694V % 43.5, M680I % 12, V726A % 11.1 ve M694I % 2.8 olarak bulunmuştur (98). Ertekin ve ark. Erzurum yöresinde yapmış oldukları çalışmalarında en sık görülen mutasyon tipi olarak M694V % 51.3, diğerlerini M680I, V726A, E148Q ve R761H sırasıyla % 7.3, % 4.9, % 4.9 ve % 2.4 bulmuşlardır (99). Yılmaz ve ark.'nın Ankara yöresinde yapmış olduğu çalışmaya göre ise hastalarda bulunan mutasyon tipleri sıklık sırasına göre M694V % 51.55, M680I % 9.22, V726A % 2.88, M694I % 0.44 ve E148Q % 3.55 gibi Türkiye geneline uyan oranlarda sonuçlar bulunmuştur. Ankara Anadolu'dan giden hastaların merkezi konumunda bulunmasından dolayı bu çalışmanın sonuçlarının Türkiye ortalamasını gösterdiğini düşünmek sanırız yanlış olmaz. Sağlıklı kişilerde yapılan tarama çalışmalarında ise taşıyıcılık sıklığı açısından M694V % 3, M680I % 5, V726A % 2, M694I % 0 ve E148Q % 12 gibi oranlarda bulunmuştur (100).

Hasta kişilerdeki mutasyonlar arasında en sık M694V mutasyonu görülürken, sağlıklı kişilerde E148Q mutasyonu görülmektedir (100). Hasta ve sağlıklı kişiler arasındaki mutasyon tiplerinin ve oranlarının farklı olması ilginç bulunmuştur. Ancak bu sonuçların fazla sayıda yapılacak tarama çalışmalarıyla desteklenmesi gerekliliğine inanılmaktadır.

Bulduğumuz mutasyon tipleri ve oranları ülkemizin diğer yörelerinde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. .

Taşıyıcılık sıklığı açısından Türk FMF Çalışma Grubu'nun verilerine göre Türkiye'deki taşıyıcılık oranı 1/5 iken Yahudilerde 1/4.5, Faslılarda 1/4.7, Iraklı Yahudilerde 1/3.5 ve Müslüman Araplarda 1/4.3 olduğu bulunmuştur (1). Taşıyıcılık açısından toplumlar arasında büyük oranda bir fark görülmemektedir. Bu taşıyıcılık oranına göre nüfusu 1 milyonun üzerinde bulunan Kahramanmaraş ilinde 200.000 taşıyıcıdan bahsetmek mümkün olabilecektir. 1/1000 olan prevalans oranının da bu ilde 1000'den fazla hastanın bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu hastaların çoğunda tanı konmamış olduğu tahmin edilmektedir.

FMF'in kesin tanısı klinik olarak konmaktadır. Bununla birlikte mutasyon tiplerinin bilinmesi tanının teyid edilmesinin yanı sıra mutasyon tiplerine göre oluşabilecek komplikasyonlara yaklaşım açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir. Mutasyon tiplerine göre komplikasyon görülme oranı incelendiğinde, amiloidoz komplikasyonunun

M694V homozigot olan hastalarda daha sık olduğu görülmektedir (5). Amiloidoz ise bilindiği üzere böbrek yetmezliği açısından risk oluşturmaktadır. Erken dönemde klinik tanı konan hastalarda kolşisin başlanmasının komplikasyonların oluşumunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (61). Bu zellikle M694V mutasyon tipi için önemlidir (62,63). Çalışma grubumuzdaki hastalarımızın yarıdan fazlasının M694V mutasyon tipine sahip olduğu görülmektedir, tanı konulmamış hastaların komplikasyonlar açısından riskli oldukları düşünülmektedir. Çalışmamızda klinik olarak tanı konulan ve mutasyon tipini tespit edemediğimiz 3 hastada proteinüri olduğu görülmüştür. Moleküler düzeyde mutasyon tipinin ortaya konulması hastalığın komplikasyonlarına yaklaşım açısından önem taşıyabilir.

Sonuç olarak, Türkiye'nin birçok yerinde olduğu gibi Kahramanmaraş ve yöresinde de çok sayıda taşıyıcı ve hasta olduğu düşünülmektedir. Mutasyon tiplerinin bilinmesi ve tedavide göz önünde bulundurulması komplikasyonları azaltabilir. Çalışmamızda Kahramanmaraş'ta M694V mutasyonunun daha sık olduğu gösterilmiştir. Bu mutasyon tipi amiloidoz için yüksek risk faktörü olduğu için FMF hastalarımızın takip ve tedavisinde amiloidoz için dikkatli olunmalıdır. Bununla birlikte bölgemizdeki FMF gen mutasyon tipleri için daha geniş ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar :

1. Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever in Turkey; Results of a Nationwide Multicenter Study. **Medicine** 2005;84;1:1-11.
2. French FMF consortium. A candidate gene for Familial Mediterranean Fever. **Nature Genet** 1997; 17: 25-31.
3. Cattan D, Delpech M. Fievre mediterraneenne familiale (maladie periodique). **Hepato-Gastro** 1996;3:369-76.
4. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. **Eur J Hum Genet** 2001; 9:473-83.
5. Sohar E, Gafni J, Pras M et al; Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. **Am J Med** 1967; 43: 227-53.
6. Arısoy N, Kasapçopur Ö, Sever L, Çalışkan S, Yazıcı H, Özdoğan H; Familial Mediterranean Fever in Turkish Children, In: First International conference on familial Mediterranean fever proceedings book, London and Tel Aviv: Freund 1997; 168-72.
7. Goldfinger SE. Colchicine for Familial Mediterranean Fever. **New Eng J Med** 1972;287:1302.
8. Pay S, Turan M, Simsek I. Prevalence of Familial Mediterranean Fever in young Turkish men. **Clin Exp Rheumatol** 2000;18:292.
9. Konstantopoulos K, Kanta A, Deltas C, Atamian V et al; Familial Mediterranean fever associated pyrin mutations in Greece. **Ann Rheum Dis** 2003; 62:479–81.
10. Güran Ş, Gök F, Erdem H, Erdil A, Yakıcıer C ve ark. Ailesel Akdeniz Ateşi-“Familial Mediterranean Fever-FMF” düşünülen olgularda MEFV gen mutasyonları. **Moleküler Tanı Dergisi** 2003;1:42-44.
11. International FMF consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. **Cell** 1997, 90: 797-08.
12. Livneh A, Langevitz P, Zemer D et al. The changing face of Familial Mediterranean Fever. **Semin Arthritis Rheum** 1996;26: 612-27.
13. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y et al. Familial Mediterranean Fever at the Millennium. **Medicine** 1998; 77: 268-97.
14. Ben Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. **Lancet** 1998; 351: 659-64.
15. Reissmann P, Durst AL, Rivkind A, Szold A, Ben-Chetrit E. Elective laparoscopic appendectomy in patients with Familial Mediterranean fever. **World J Surg** 1994; 18: 139-41.

16. Desnick RJ; The porphyrias. In: Isselbacher KJ ed. Harrison's principles of internal medicine, 13 th edition New York: Mc Graw Hill pp 1994; 2073-79.
17. Gifli I, Sheffer AL, Austen KF; Angiodema, In: Samter, M ed. Immunological diseases, 4 th edition, Boston: Little Brown pp 1988; 1205-20.
18. Jialal I. A practical approach to the laboratory diagnosis of dyslipidemia. **Am J Clin Parhol** 1996;106:128-38.
19. Zimand S, Tauber T, Hegesch T, Aladjem M. Familial Mediterranean fever presenting with massive cardiac tamponade. **Clin Exp Rheumatol** 1994;12:67.
20. Cazeneuve C, Sarkisian T, Pecheux C, et al. 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** 1999;65:88-97.
21. Medlej-Hashim M, Delague V, Choueri E, et al. Amyloidosis in Familial Mediterranean Fever patients:correlation with MEFV genotype and SAAI and MICA polymorphisims effects. **BMC Med Genet** 2004;5:1-6.
22. Kees S, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Pras M, Livneh A. Pericarditis as a rare manifestation of familial Mediterranean fever (FMF).In: Sohar E, Gafni J, Pras M, eds. Familial Mediterranean Fever. Tel Aviv Freund Publishing House 1997:129-31.
23. Pras M. Familian Mediterranean fever: from the clinical syndrome to the cloning of the pyrin gene. **Scand J Rheumatol** 1998;27:92-97.
24. Notarnicola C, Didelot MN, Kone-Paut I, Seguret F, Demaille J, Toitou I. Reduced MEFV messenger RNA expression in patient with familial Mediterranean fever. **Arthritis Rheum** 2002;46: 2785-2793.
25. Matzner Y, Ayesh S, Hochner-Celniker D et al. Proposed mechanizm of inflammatory attacks in familial Medeterranean fever. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1289-91.
26. Barakat MH, Malhas LN, Gumaa KK. Catecholamine metabolism in recurrent hereditary polyserositis. Pathogenesis of acute inflammation: The retention leakage hypothesis. **Biomed Pharmacother** 1989; 43: 763-69.
27. Bar-Eli M, Wilson L, Peter RS, Schwabe AD, Territo MC. Microtubules in PMNs from patients with familial Mediterranean fever. **Am J Hematol** 1981;11:387-95.
28. Anton PA, Targan SR, Vina SR, Durham M, Schwabe AD, Shanahan F. Enhanced neutrophil chemiluminescence in familial Mediterranean fever. **J Clin Immunol** 1988; 8:148-56.

29. Eliakim M, Levy M, Ehrenfeld M. Laboratory examinations. In: Recurrent Polyserositis (familial Mediterranean fever, periodic disease). Amsterdam: **Elsevier North Holland** 1981; pp 87-95.
30. Rozenbaum M, Katz R, Rozner I, Pollack S. Decreased interleukin 1 activity released from circulating monocytes of patients with familial Mediterranean fever during in vitro stimulation by lipopolysaccharide. **M Rheumatol** 1992; 19: 416-418.
31. Matzner Y. Biologic and clinical advances in familial Mediterranean fever. **Crit Rev Oncol Hematol** 1995; 18: 197-05.
32. Direskeneli H, Ozdogan H, Korkmaz C, Akoglu T, Yazıcı H. Serum soluble intercellular adhesion molecule 1 and interleukin 8 levels in familial Mediterranean fever. **J Rheumatol** 1999; 26: 1983-86.
33. Erken E, Gunesacar R, Ozbek S, Konca K. Serum soluble interleukin 2 receptor levels in familial Mediterranean fever. **Ann Rheum Dis** 1996;55:852-55.
34. Matzner Y, Brezizinski A. C5a-inhibitor deficiency in peritoneal fluids from patients with Familial Mediterranean Fever. **N Engl J Med** 1984;311:287-90.
35. Heler H, Gafni J, Michaeli D, Shanin N, Sohar E, Ehrlich G, Katren L, Sokoloff L. The arthritis of familial Mediterranean fever. **Arthritis Rheum** 1996; 9:1-17.
36. Langewitz P, Livneh A, Zemer D, Shemer J, Pras M; Seronegative spondyloarthritis in familial Mediterranean fever. **Semin Arthritis Rheum** 1997; 27: 67-72.
37. Gedalia A, Adar A, Gorodischer R. Familial Mediterranean fever in children. **J Rheumatol** 1992; 35: 1-9.
38. Sneh E, Pras M, Michaeli D, Shanin N, Gafni J. Protracted arthritis in familial Mediterranean fever. **Rheumatol Rehabil** 1977;16:102-06.
39. Yalçınkaya F, Tekin M, Tumer N, Ozkaya N. Protracted arthritis of familial Mediterranean fever (an unusual complication). **Br J Rheum** 1997; 36: 1228-30.
40. Gonzales A.G, Weisman M.H. The arthritis of Familial Mediterranean Fever. **Semin Arthritis Rheum** 1992; 24: 139-50.
41. Majeed HA, Rawashdeh M, El Shanti H, Qubain H, Khuri-Bulos, Shahin M. Familial Mediterranean fever in children: the expanded profile. **Q J Med** 1999;92:309-18.
42. Medlej-Hashim M, Delague V, Choueri E et al. Amyloidosis in Familial Mediterranean Fever patients:correlation with MEFV genotype and SAAI and MICA polymorphisms effects. **BMC Med Genet** 2004;5:1-6.

43. Flatau E, Kohn D, Schiller D et al. Schönlein-Henoch syndrome in patients with FMF. **Arthritis Rheum** 1982;25:42-47.
44. Savi M, Asinari G, Gaudio V et al. Unusual immunologic findings in familial Mediterranean fever. **Arch Intern Med** 1978; 138: 644-45.
45. Tekin M, Yalçınkaya F, Tümer N et al. Clinical, laboratory and molecular characteristics of children with Familial Mediterranean Fever-associated vasculitis. **Acta Paediatr.** 2000; 89:177-82.
46. Henckes M, Roskams T, Vanneste S, Van Damme B, Vanrenterghem Y. Polyarteritis nodosa type vasculitis in a patient with familial Mediterranean fever treated with cyclosporin A. **Transpl Int** 1994;7:292-96.
47. Ben-Chetrit E, Yazici H. Thoughts on the proposed links between Behcet's disease and familial Mediterranean fever. **Clin Exp Rheumatol** 2002;20:1-2.
48. Moskovitz B, Bolker M, Nativ O. Acute orchitis in recurrent polyserositis. **J Pediatr Surg** 1995 30: 1517-18.
49. Langevitz P, Zemer D, Livneh A, Shemer J, Pras M. Protracted febrile myalgia in patients with familial Mediterranean fever. **J Rheumatol** 1994; 21: 1708-1709.
50. Eliakim M, Levy M, Ehrenfeld M. Laboratory examinations, In: Recurrent Polyserositis (familial Mediterranean fever, periodic disease). Amsterdam: **Elsevier North Hollan** 1981:37-95.
51. Gedalia A, Zamir S. Neurologic manifestations of familial Mediterranean fever. **Pediatr Neurol** 1993; 9: 301-02.
52. Rabinovitch O, Zemer D, Kukia E, Sohar E, Mashiach S. Colchicine treatment in conception and pregnancy; Two hundred thirty-one pregnancies in patients with familial Mediterranean fever. **Am J Reprod Immunol** 1992; 28: 245-46.
53. Majeed HA, Quabazard Z, Hijazi Z, Farwana S, Harshani F. The cutaneous manifestations in children with familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis). A six year study. **Q J Med** 1990;75:607-16.
54. Said R, Hamzeh Y, Said S, Tarawneh M, al-Khateeb M. Spectrum of renal involvement in familial Mediterranean fever. **Kidney Int** 1992; 41: 414-19.
55. Schwabe AD, Peters RS. Familial Mediterranean fever in Armenians, Analysis of 100 cases. **Medicine (Baltimore)** 1974; 53: 453-62.
56. Friman C, Pettersson T. Amyloidosis. **Curr Opin Rheumatol** 1996;8:62-71.
57. Bakkaloğlu A. Familial Mediterranean Fever. **Pediatric Nephrol** 2003;18:853-59.

58. Saatci U, Ozen S, Ozdemir S, Bakkaloğlu A et al. Familial Mediterranean fever in children: Report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amyloidosis, **Eur J Pediatr** 1997;8: 619-23.
59. Ozer FL, Kaplaman E, Zileli S. Familial Mediterranean fever in Turkey, A report of twenty cases. **Am J Med** 1971; 50: 336-39.
60. Heller H, Sohar E, Gafni J, Heller J. Amiloidosis in Familial Mediterranean Fever An Independent Genetically Determined Character. **Arch Intern Med** 1961;107:539-55.
61. Yalçınkaya F, Akar N, Mısırlıoğlu M. Familial Mediterranean fever-amiloidosis and the Val726 Ala mutation. **N Engl J Med** 1998; 338: 993-94.
62. Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, Zaks N, Kastner DL, Pras M, Pras E. MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of familial Mediterranean fever, **Amyloid** 1999; 6: 1-6.
63. Shohat M, Magal N, Shohat T, Chen X et al. Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. **Eur J Hum Genet** 1999; 7: 287-92.
64. Ludomirsky A, Passwell J, Boichis H. Amyloidosis in children with familial Mediterranean fever. **Arch Dis Child** 1981; 56: 464-67.
65. Sungur C, Sungur A, Ruacan S, Arık N, Yasavul U, Turgan C, Caglar S. Diagnostic value of bone marrow biopsy in patients with renal disease secondary to familial Mediterranean fever. **Kidney Int** 1993; 44: 834-36.
66. Celkan T, Çelik M, Kasapçopur Ö, et al. The anemia of familial Mediterranean fever disease. **Ped Hematol Oncol** 2005;22:657-65.
67. Özel A, Demirtürk L, Yazgan Y. Familial Mediterranean Fever. A review of the disease and clinical and laboratory findings in 105 patients. **Dig Liver Dis** 2000;32:504-9.
68. Özlü SG. Ailevi Akdeniz Ateşi Olgularında Gen Mutasyonları Ve Hastalık Ağırlık Skorlaması İlişkisi; Kolşisin Tedavisinin Kan B12 Vitamini Düzeylerine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi 2006 İstanbul.
69. Pras E, Livneh A, Balow JE et al. Clinical differences between North African and Iraqi Jews with Familial Mediterranean fever. **Amer J Med Genet** 1998; 75: 216-19.
70. Kershenovich D, Varga F, Garcia Tao G, Tamayo RP, Gent M, Rojkind M. Colchicine in the treatment of cirrhosis of the liver. **N Engl. J Med** 1988;318:1709-13.
71. Özen S, Uçkan D, Baskın E, Okur H, Beşbaş N, Saatçi Ü, Bakkaloğlu A. Apoptosis in Familial Mediterranean Fever. **Clin Exp Rheumatol** 2000;18:277.

72. Goldstein RC, Schwabe AD. Prophylactic colchicine therapy for familial Mediterranean fever. A controlled, double-blind study. **Ann Intern Med** 1974; 81: 792-94.
73. Zemer D, Livneh A, Danon YL, Sohar E. Long-term colchicine treatment in children with familial Mediterranean fever, Mediterranean fever. **Arthritis Rheum** 1991; 34: 973-77.
74. Zemer D, Pras M, Sohar E, Gafni J et al. A controlled trial of colchicine in preventing attacks of familial Mediterranean fever. **N Engl J Med** 1974;291: 932-34.
75. Zemer D, Pras M, Sohar E, Modan M, Cabili S, Gafni J. Colchicine in the prevention and treatment of the amyloidosis of familial Mediterranean fever. **N Engl J Med** 1986; 314: 1001-05.
76. Livneh A, Zemer D, Langevitz P, Loar A, Sohar E, Pras M. Colchicine treatment of AA amyloidosis of familial Mediterranean fever. An analysis of factors affecting outcome. **Arthritis Rheum** 1994; 37: 1804-11.
77. Kuncel RW, Lewin KJ, Peters RS, Schwabe AD. Effect of long-term colchicine therapy on jejunal mucosa. **Dig Dis Sci** 1993; 389: 2017-21.
78. Efrenfeld M, Levy M, Margalioth EJ, Eliakim M. The effects of long term colchicine therapy on male fertility in patients with familial Mediterranean fever. **Andrologia** 1986; 18: 420-26.
79. Ben-Chetrit E, Scherrmann JM, Levy M. Colchicine in breast milk of patients with familial Mediterranean fever. **Arthritis Rheum** 1996; 39: 1213-17.
80. Putterman C, Ben-Chetrit E, Caraco Y, Levy M. Colchicine intoxication: Clinical pharmacology, risk factors, features and management. **Semin Arthritis Rheum** 1991; 21: 143-55.
81. Pras E, Aksentijevich I, Pras M, Kastner DL et al. Mapping of gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. **N Engl J Med** 1992;326: 1509-13.
82. Sood R, Aksentijevich I, Kastner DL, Doffett NA et al. Construction of a 1 Mb restriction mapped cosmid containing the candidate region for the familial Mediterranean fever locus on chromosome 16p13.3. **Genomics** 1997; 42: 83-95.
83. Balow JE Jr, Livneh A, Pras M, Kastner DL, et al. A high resolution genetic map of the familial Mediterranean fever candidate region allows identification of haplotype sharing among ethnic groups. **Genomic** 1997; 44:280-92.
84. Livneh A, Langevitz P, Zemer D. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. **Arthritis Rheum**. 1997; 40: 1879-85.

85. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, Kastner DL et al. Familial Mediterranean fever at the Millenium, Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health. **Reviews in Molekuler Medicine** 1998; 77:268-97.
86. Doğa Demir A. Çocukluk çağı Ailevi Akdeniz Ateşi hastalarında klinik ve epidemiyolojik özelliklerin belirlenmesi ve bu özelliklerle sık görülen mutasyonlar arasındaki ilişkilerin araştırılması. Uzmanlık tezi 2007 İstanbul.
87. Yolcu İ. Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Bazı MEFV Mutasyonların Sıklığının İncelenmesi. Uzmanlık tezi 2007 İzmir.
88. Aynacıoğlu A.Ş. Genetik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemlerin Farmakolojide Uygulamaları, Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumu 2 Haziran 2006 Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Van
89. http://www.medicine.ankara.edu.tr/internal_medical/pediatrics/mol-gen/index
90. Michaeli D, Pras M, Rosen N. Intestinal strangulation complicating Familial Mediterranean Fever (FMF). **B Med J** 1966;2:30-32.
91. Ismachovich B, Zemer D, Revach M, Serr DM, Sohar E. The causes of sterility in females with Familial Mediterranean Fever. **Sterility and Fertility** 1973; 24:844-47.
92. Bakkaloglu A. Familial Mediterranean Fever. **Pediatr Nephrol** 2003;18:853-59.
93. Centola M, Kastner DL, and the International FMF Consortium. Cloning of the MEFV: Implications for the pathophysiology of Familil Mediterranean Fever. In: Sohar E, Gafni J, Pras M, eds. Familial Mediterranean Fever .Tel Aviv :Freund Publishing House,1997:252-9.
94. 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: 70.
95. Stoffman N, Magal N, Shohat T, Shohat M et al. Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever in various Jewish ethnic groups. **Eur J Hum Genet.** 2000; 8: 307-10.
96. Gershoni-Baruch R, Shinawi M, Leah K et al. Familial Mediterranean Fever: prevalance, penetrance and genetic drift, **Eur J Hum Genet** 2001;9:634-37.
97. Güneşaçar R, Kasap H, Erken E and Özer HTE. Comparison of Amplification Refractory Mutation System and Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Tecniques Used for the Investigation of MEFVGene Exon 10 Point

Mutations in Familial Mediterranean Fever Patients Living in Çukurova Region (Turkey).

Genetic Testing 2005; 9: 220-25.

98. Akar N, Mısırlıoğlu M, Yalçınkaya F, Akar E et al. MEFV Mutations in Turkish Patients Suffering from Familial Mediterranean Fever. **Human Mutation** 2000;15:118-19.

99. Ertekin V, Selimoğlu A and Pirim İ. Familial Mediterranean fever in childhood population in eastern Turkey. **Pediatrics International**. 2005; 47:640-44.

100. Yılmaz E, Ozen S, Topaloğlu R, Saatci U et al; Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. **Eur J Hum Genet**. 2001; 9:553-55.