

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞI TAŞIYAN BİREYLERDE
MEFV GENİNDE R202Q GEN DEĞİŞİMİNİN TARANMASI**

Cennet YILDIZ

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Nejat AKAR

2009 - ANKARA

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (AAA) (FAMİLİAN MEDITERRANEAN FEVER, FMF) HASTALIĞI TAŞIYAN BİREYLERDE *MEFV* GENİNDE R202Q GEN DEĞİŞİMİNİN TARANMASI

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) akut, yineleyici, kendini sınırlayan, ateş ile steril peritonit, plörit ve sinovit ile kendini gösteren serozal inflamasyon ile karakterize otozomal resesif geçişli bir genetik hastalıktır. AAA, özellikle Sefardik Yahudileri, Ermeniler, Türkler ve Araplar gibi Doğu Akdeniz civarı kökenli popülasyonları daha çok etkiler. AAA'nın en ciddi komplikasyonu amiloidoz gelişimidir.

AAA'ya yol açan gen, *MEFV*, 16. kromozomun kısa kolu üzerinde yerleşiktir. *MEFV* geni, Pirin/Marenostrin isimli bir proteini kodlar. Pirinin antiinflamatuvar yanıtta negatif bir düzenleyici olarak rol oynadığı düşünülmektedir. AAA hastalarının çoğunda *MEFV* gen mutasyonları gösterilmiştir. 10. ekzondaki M694V mutasyonu Türk AAA hastalarında en sık görülen mutasyondur.

Olguların, ekzon 2 bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifiye edildikten sonra 2. ekzonda yer alan R202Q, PvuII restriksiyon endonükleaz enzimi kesim yöntemiyle incelenmiştir.

R202Q gen değişimi M694V mutasyonu ile *cis* pozisyonda yer aldığı bildirilmiştir. Çalışmada belirlediğimiz R202Q'nun M694V mutasyonu ile birlikte kalıtım göstermeyen, birden fazla haplotipinin olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda R202Q'nun M694V mutasyonu ile trans kalıtıldığı görülmektedir. Bu da R202Q'nun en azından bazı FMF hastalarında hastalıkla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Hastalıkla ilişkili bir mutasyonla beraberliği durumunda hastalıkla ilgili klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu da tanı için R202Q gen değişiminin önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Sonuçlarımız, Türk toplumunda R202Q gen değişiminin rutin FMF analizlerine dahil edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), *MEFV* Geni, R202Q polimorfizm

SCREENING OF *MEFV* GENE MUTATION R202Q GENE IN FAMILIAN MEDITERRANEAN FEVER

ABSTRACT

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive genetic disorder characterised by recurrent acute self-limited episodes of fever and serosal inflammation manifested by sterile peritonitis, pleuritis and synovitis. FMF mainly affects populations around the eastern Mediterranean origin, especially Sephardic Jews, Armenians, Turks and Arabs. The most serious complication of FMF is the development of amyloidosis.

The gene causing FMF, *MEFV*, is located on the short arm of chromosome 16. *MEFV* gene encodes a protein named Pyrin/Marenostrin. It has been thought that pyrin acts as a negative regulator of the inflammatory response. Mutations in the *MEFV* gene have been identified in the majority of FMF patients. The M694V mutation in exon 10 is the most common among Turkish FMF patients.

After amplification of exon 2 region with polymerase chain reaction (PCR), we analyse R202Q at exon 2 with PvuII restriction endonuclease enzyme digestion method.

R202Q polymorphism is located in cis position with M694V mutation. In case of R202Q existed at exon 2, It was observed that there is one more haplotype which is not in linkage with M694V mutation. Our study revealed that there is another haplotype of carrying R202Q in trans with M694V mutation. This indicates that R202Q alteration might be a disease-causing mutation. When combined with other disease-causing mutation, the clinical spectrum appears. This emphasizes that R202Q alteration is important for diagnosis.

Our results show that R202Q gene alteration should be included in routine FMF gene analysis.

Key Words: Familial Mediterranean Fever (FMF), *MEFV* Gene, R202Q polymorphism

ÖNSÖZ

Beni yüksek lisansta danışmanlığına kabul eden, tez süresi boyunca hakkını ödeyemeyeceğim iyilikleri, hoşgörüsü ve desteği ile her konuda bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Nejat AKAR'a, tecrübeleriyle, değerli fikirleriyle her zaman yanımda olan Bio.Dr. Erkan Yılmaz'a; tez çalışmam sırasında ortaya çıkan her olumsuzlukta, en zor anlarımda her zaman dinleyen, yapıcı eleştirileri ile bana yardımcı olan Uzm.Bio.Yonca Eğin'e; çalışmalarımızda bizi daima destekleyip huzurlu bir ortamda çalışmamızı sağlayan, ilgi ve yardımlarını unutamayacağım Uzm.Bio Ece Akar'a; çalışmam boyunca bilgi ve önerileriyle yanımda olan Bio. Dr. Ayşenur Öztürk'e; tezimin her aşamasında bana yardımcı olan ve her konuda fikrine danıştığım Tek.Kadir Sipahi'ye; bu tezi yaparken ve yazarken sıcak çalışma ortamını paylaşmaktan büyük keyif aldığım değerli çalışma arkadaşlarım Uzm. Bio.Didem Torun, Bio. Dilara Fatma Akın, Uzm.Bio Afife Karabıyık, Bio.Duygu Sanlıdilek, Uzm. Bio. Zafer Erik, Bio. Hamit Emre Kızıl, Bio. Zerrin Gülin Gülbahar, Bio. Sezen Ballı, Uzm. Bio. Zehra Veli, Uzm.Bio. Özge Cumaoğulları ve Tek.Çiğdem Arslan ismini sayamadığım tüm Pediyatrik Moleküler Genetik ailesine çok teşekkür ederim. Bana verdiği sonsuz sevgi, sabır ve manevi desteğini esirgemediği için, sevgili eşim Engin Akyol ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim değerli aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
DİZİLER DİZİNİ	x
SİMGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, FMF)	3
2.2. FMF Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi	4
2.3. Patogenez	6
2.4. Klinik Bulgular	8
2.5. Ailevi Akdeniz Ateşi Tanı Kriterleri ve Tedavi	10
2.6. Genetik	12
2.6.1. MEFV Gen Mutasyonları	16
2.6.2. Pyrin / Marenosttrin	17
2.7. Moleküler Teknikler	17
2.7.1. DNA Ekstraksiyonu	17
2.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	19

2.7.3. Restriksiyon Endonükleaz Enzimleriyle Kesim	
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	20
3.1. Yöntemler	20
3.1.1. DNA Ekstraksiyonu	20
3.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
3.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi	22
3.1.4. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz Enzimleriyle Muamelesi	23
3.1.4.1. <i>MEFV</i> 2. Ekzon R202Q (c.605 G>A) Gen Değişiminin PvuII ile İncelenmesi	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. <i>MEFV</i> 2. Ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) Gen Değişimi	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1. 16. kromozomda FMF geninin (<i>MEFV</i>) lokalizasyonu.....	10
Şekil 2.2. Pryn proteininde alt birimlerin şematik gösterimi.....	16
Şekil 4.1. 1 nolu ailenin aile ağacı	27
Şekil 4.2. 2 nolu ailenin aile ağacı	28
Şekil 4.3. 3 nolu ailenin aile ağacı	29

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1.	<i>MEFV</i> geni genel yapısı	11
Tablo 2.2.	<i>MEFV</i> geninde nükleotid-aminoasit değişimler	13
Tablo 3.1.	<i>MEFV</i> geni 2. ekzonunun PCR ile çoğaltılan 658 bç'lik bölümünde PvuII enzim kesim bölgeleri	24
Tablo 4.1.	2. ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) gen değişiminin FMF hastalarındaki genotip dağılımı	25
Tablo 4.2.	2. Ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) gen değişimini ve 10. Ekzon M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşıyan FMF hastalarının genotip dağılımı	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No:

Çizelge 3.1. 2. ekzon PCR ürünlerinin elektroforez fotoğrafı.....	23
Çizelge 3.2. <i>MEFV</i> 2. ekzon R202Q (c.605 G>A) gen değişikiminin PvuII ile kesimi.....	24

DİZİLER DİZİNİ

Sayfa No:

Dizi 3.1. *MEFV* geni 2. ekzonunun PCR ile çoğaltılan 658 bç'lik bölümü..... 22

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin bazı
AA	: Amiloid A
AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF)
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Ala	: Alanin aminoasiti
Arg	: Arjinin aminoasiti
Asn	: Asparajin aminoasiti
Asp	: Aspartik asit
BBF	: Bromfenol mavisi
Bç	: Baz çifti
C	: Sitozin bazı
°C	: Santigrat derece
CARD	: Kaspaz toplanma bölgesi
Cys	: Sistein aminoasiti
D	: Aspartik asit
ddH ₂ O	: Deiyonize su
DDs	: Ölüm domeini
DEDs	: Ölüm efektör domeini
del	: Delesyon
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotid trifosfat
ddNTP	: Dideoksinükleotid trifosfat
E	: Glutamik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
g	: Gram
G	: Guanin bazı
Gly	: Glisin aminoasiti
Gln	: Glutamin aminoasiti

Glu	: Glutamik asit
HCl	: Hidroklorik asit
His	: Histidin aminoasiti
Ile	: İzolösin aminoasiti
K ⁺	: Potasyum iyonu
kb	: Kilobaz
KCl	: Potasyum Klorür
kDa	: Kilo dalton
KHNO ₃	: Potasyum Bikarbonat
Leu	: Lösin aminoasiti
l	: Litre
Lys	: Lizin aminoasiti
M	: Molar
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
MEFV	: Ailevi Akdeniz ateşi geni
Met	: Metiyonin aminoasiti
mg	: Miligram
Mg ⁺²	: Magnezyum iyonu
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
NH ₄ Cl	: Amonyum Klorür
p	: Kromozomun kısa kolu
P	: Prolin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
pH	: Asitlik-Bazlık Derecesi
Phe	: Fenilalanin aminoasiti
pmol	: Pikomol
Pro	: Prolin aminoasiti
R	: Arjinin
RBC	: Kırmızı kan hücresi
RE	: Restriksiyon endonükleaz

Q	: Glutamin
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı
s	: Saniye
SAA	: Serum amiloid A
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
Ser	: Serin aminoasiti
T	: Timin Bazı
Taq	: Thermus aquaticus
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
TE	: Tris-EDTA
Thr	: Treo nin aminoasiti
TRIM	: Tripartite motif
Trp	: Triptofan aminoasiti
Tyr	: Tirozin aminoasiti
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
Val	: Valin aminoasiti

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), serozal ve sinovyal membranların tekrarlayan inflamatuvar febril atakları ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır (Tunca vd 2005). FMF hastalarında yaşamı tehdit eden en önemli komplikasyon amiloidozdur. Tedavi edilmeyen olguların %20 kadarında 40 yaş civarında amiloidoz gelişir. FMF hastaları literatürde ilk kez 1908 yılında Janeway ve Rosenthal tarafından bildirilmiş, 1945 yılında Siegal tarafından çok sayıda olgunun sunumuyla “Benign Paroksizmal Peritonit” adıyla yayınlanmıştır. Daha sonra Sohar ve Heller tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmıştır (Siegal vd 1945).

FMF, esas olarak Sefardik Yahudileri, Ermeniler, Türkler ve Araplar gibi Doğu Akdeniz kökenli insanlarda daha sık olmasına rağmen, 20. yüzyılda yaygın popülasyon hareketleri nedeniyle tüm dünyada gözlenmeye başlanmıştır. Tahmini taşıyıcılık oranı, Kuzey Afrika Yahudilerinde 1/6 iken, Askenazi Yahudilerinde 1/135’tir (Daniels vd 1995). Özellikle Sefardik Yahudileri bildirilen olguların %60’ını oluşturur. Yunanistan, İtalya, İspanya, Lübnan, Japonya ve Avusturya’da da hastalık mevcuttur (Ritis vd 2004, Oberkaninsvd 2003, La Regina vd 2003, Yoshida vd 2003). Türkiye’de hastalık prevalansı 1:1075’dir. Türkler’de taşıyıcılık frekansı 1:5 olarak bildirilmiştir (Yılmaz vd 2001).

FMF hastalık geninin lokusu (MEditerranean FeVer; MEFV) 1992 yılında 16. kromozomun kısa kolu üzerinde (16p13.3 noktasında) bulunduğu saptanmış ve bu gen 1997 yılında Uluslararası FMF Konsorsiyumu ve Fransız FMF Konsorsiyumu tarafından birbirlerinden bağımsız olarak klonlanmıştır (Pras ve ark.1992; Fransız FMF Konsorsiyumu 1997; Uluslararası FMF Konsorsiyumu 1997). MEFV geni 781 amino asitten oluşan ve pyrin/marenostin adı verilen bir proteini kodlamaktadır. Günümüzde bu proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte inflamasyon olayının kontrolünde rol oynadığı ve özellikle nötrofillerde ifade olduğu ileri sürülmektedir (Fransız FMF Konsorsiyumu 1997; Uluslararası FMF Konsorsiyumu, 1997).

MEFV geninde oluşan mutasyonların büyük çoğunluğu yanlış anlamlı (*missense*) mutasyonlardır, aminoasit dizisinde değişiklik oluşur, proteinin yapısını ve fonksiyonunu

değiştirir. MEFV geninde bugüne kadar ortaya çıkarılan mutasyonlardan ülkemizde en sık görülenler, M694V, M680I, E148Q, V726A'dır. Türklerde FMF'li hastaların %43.5'inde M694V alleli gözlenmiştir (Akar vd 2000).

1998'de 2. ekzonda (E148Q, E167D ve T267I) (Bernot vd 1998), 5. ekzonda (F479L) (Bernot vd 1998) ve 10. ekzonda (M694I, K695R, A744S, R761H, T681I, I692del ve M694del) (The French FMF Consortium 1997, The International FMF Consortium 1997, Samuels vd 1998, Bernot vd 1998, Booth vd 1998) yeni mutasyonlar tanımlanmıştır. Günümüze kadar 186 gen değişimi FMF veri tabanında sunulmaktadır (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>).

MEFV geni 2.ekzonda yer alan R202Q gen değişiminin M694V mutasyonu ile *cis* pozisyonda yer aldığı bildirilmiştir (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>11). R202Q ilk olarak Bernot tarafından tanımlanmıştır (Bernot vd 1998). Mutasyon taşımayan kromozomlarda %15 ve 10. ekzon haricinde mutasyon bulunan kromozomlarda %16 olarak bildirilmiş ve bundan yola çıkılarak R202Q'nun yaygın görülen bir polimorfizm olabileceği ileri sürülmüştür (Bernot vd 1998).

Bu haplotipin Türk popülasyonuna özgü olabileceği bölümümüzde yapılan ön çalışmalarla belirlendiğinden, 2000 yılından günümüze kadar Pediatrik Moleküler Genetik Bilim Dalı'nda FMF ön tanısıyla *MEFV* gen mutasyon analizleri yapılan ve tek taraflı mutasyon taşıyan ya da mutasyon belirlenemeyen hastaların R202Q gen değişimi taranması amaçlanmıştır (Öztürk vd 2008). Türkiye' de çok sayıda laboratuvar da, MEFV gen değişimleri araştırması "strip- assay" ile mutasyon taraması şeklindedir. Bu teknikte taranan mutasyonlar içinde R202Q mutasyonu yoktur. Bu çalışma sonucunda olgu sayıları ve hastalar içindeki oranı belirlenirse, bu strip- assay'lere bu mutasyonun girmesi sağlanabilir ve Türk FMF hastalara daha doğru teşhis konulması mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (AAA, FMF)

FMF, Doğu Akdeniz havzasındaki etnik gruplarda özellikle Türk, Yahudi ve Ermeni toplumlarında sık gözlenen, bununla birlikte Yunan, İtalyan, İspanyol ve Japon gibi diğer toplumlarda da gözlenmiş otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır (Goldfinger vd 1972, Kastner vd 1991). FMF klinik olarak dönem dönem tekrarlayan 38-40 dereceye varan ateş, peritonit, plevrit ve özellikle diz bilek ve dirsekleri tutan akut sinovit ile 1-3 gün devam eden ve semptomsuz dönemler içeren bir hastalıktır. Ataklar arası dönemde hastaların genel durumları oldukça normaldir. Bununla birlikte çocuklarda baş ağrısı ve yorgunluk şikayetleri gözlenmiştir. Ataklar her hafta tekrarlayabileceği gibi bazen haftalarca hatta aylarca tekrarlamayabilir. Klinik semptomlar genellikle hastaların yaklaşık %25'inde yaşamın ilk dört yılında, %80'inde ise ilk 10 yılında ortaya çıkar. Hastalığın en ağır komplikasyonu amiloidozdur ve genelde bu gruba giren hastalar daha asemptomatiktir.

2.2. FMF ETİYOLOJİSİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ

Hastalık ilk kez 1908 yılında Janeway ve Rosenthal tarafından, 16 yaşında, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve lökositozu olan Yahudi bir kızda “paroksizmal bir hastalık” olarak bildirilmiştir (Janeway vd 1998). Siegal kendisinde ve 10 Askenazi Yahudisi'nde aynı tabloyu saptamış ve “Benign Paroksizmal Peritonitis” olarak yayınlamıştır (Siegal vd 1945). 1948 yılında Reiman “Periyodik hastalık” tanımlamasını kullanmıştır. 1951 yılında ilk kez Catton ve Mamou hastalığın ailevi olduğuna dikkati çekmişler ve 1956 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir. 1960'larda Sohar ve ark. hastalığı ayrıntılı olarak tanımlamış ve “Ailevi Akdeniz Ateşi” (Familial Mediterranean fever) ismini önermişlerdir. 1972 yılında kolşisinin hastalık ataklarını ve amiloidozu önlediği gösterilmiştir (Goldfinger vd 1972).

1997 yılında Uluslar Arası FMF Konsorsiyumu ve Fransız FMF Konsorsiyumu birbirlerinden bağımsız olarak FMF geni MEFV' nin (MEditerraneanFeVer) 16. kromozomun kısa kolunda olduğunu bildirmişlerdir (The French FMF Consortium,1997; The International FMF Consortium, 1997). MEFV geni ve taşıdığı mutasyonlarının ortaya çıkması üzerine FMF'in yaygın olduğu pek çok ülkede MEFV gen mutasyonlarının fenotipe etkisi araştırılmıştır. Hastalığı meydana getiren moleküler mekanizma halen tam anlamıyla çözülebilmemiş değildir.

FMF genellikle Doğu Akdeniz kökenli insanlarda, özellikle de Askenazi olmayan Yahudilerde, Ermenilerde, Araplarda ve Türklerde yaygın bir hastalıktır (Sohar vd 1967). Bununla birlikte İspanya, İtalya Yunanistan (Touitou vd 2001) ve Mısırdaki da (Öztürk vd 2009) tanımlanmıştır.

Askenazi olmayan Yahudilerde hastalığın yaygınlığı 1/250 ve 1/500 arasındadır(Daniels vd 1995). Hastalığın Türklerdeki yaygınlığı 1/ 1075 ve Orta Anadolu'daki yaygınlığı ise 1/395 olarak bulunmuştur (Özen vd 1998).Hastalığın taşıyıcı frekansı Türklerde 1/5 (Yılmaz vd 2001), Askenazi Yahudilerinde 1/11 ve Ermenilerde ve Kuzey Afrika Yahudilerinde ise 1/7 olarak bildirilmiştir (Daniels vd 1995).

Özellikle bu etnik gruplarda yaygın olarak rastlanması FMF hastalığının *MEFV* mutasyonlarındaki dağılıma bakarak yaklaşık 2000-2500 yıl önce Orta Doğu'da ortaya çıkıp Anadolu, Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Ermenistan'ı içine alan Ön Asya bölgelerine yayıldığına göstergesi olarak kabul edilmiştir (Ben-Chetrit vd 1998).

2.3 PATOGENEZ

Otozomal resesif geçişli olan FMF hastalığına neden olan gen (*MEFV*) sağlıklı bireylerde de araştırmacıların pyrin ya da marenostirin (Marenostrium:Akdeniz) adını verdikleri ve normal koşullarda inflamasyonu kontrol altında tutmaya yarayan bir proteini kodlamaktadır. Bu yüzden bu gende oluşacak mutasyonlar pyrinin görevini yapamamasına ve inflamasyon kontrolünün bozulmasına neden olur.

Eklemlere olan minör travmalar ve çeşitli sitokinlere bağlı stresin neden olduğu inflamatuvar yanıt normal pyrin varlığında inhibe edilebilirken, FMF'li hastalardaki

mutant pyrinin varlığında bu yanıtın kontrol edilemediği sanılmaktadır (Goldfinger vd 1972).

MEFV gen ürünü olan pyrin fonksiyonunun anlaşılmasıyla sadece FMF patogenezi değil aynı zamanda genel olarak inflamasyon döngüsü de aydınlatılabilecektir. Pyrinin yaygın olarak olgun nötrofillerde eksprese edilmesi bu proteinin muhtemelen inflamasyon mediatörlerinin down regülasyonunu sağladığını düşündürmektedir (Ozen vd 2001). Nötrofiller akut inflamasyonun ana hücreleri olduğundan, pyrinin bu hücrelerdeki rolü önemli olabilir. Burada diğer önemli bir nokta ise şudur; sinovyal ve peritoneal hücrelerdeki pyrin ekspresyonunun yetersizliği bu proteinin doku spesifik tarzda etkili olmadığını göstermektedir (Notarnicola vd 2002). FMF hastalarında *MEFV* mRNA ekspresyonu sağlıklı kişilere göre düşük düzeyde bulunmuştur (Barakat vd 1989). Mutasyon nedeniyle pyrinin görev yapamaması, kontrolsüz nötrofil aktivasyonuna ve bu hücrelerin serozal dokulara göçüne neden olabilir. Bununla birlikte hedefin niçin serozal dokular olduğu açıklık kazanmamıştır (Notarnicola vd 2002).

2009 yılı FMF veri tabanında 186 gen değişimi bildirilmiştir. (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>). Bu mutasyonların büyük çoğunluğu *missense* (yanlış anlamlı) mutasyonlardır ve Tablo1.2'de gösterilmektedir. Geçmişte yapılan çalışmalarda öncelikle üç major mutasyon (M680I, M694V ve V726A) klinikle sıkı bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Chen vd 1998, Cattan vd 1996, Ben-Chetrit vd 1998). Özellikle M694V mutasyonunun homozigotluğu hastalığın ağır seyretmesi (semptomların erken yaşta başlaması, kısa aralıklarla atakların tekrarlanması, tedavi amacıyla yüksek doz kolşisin kullanma zorunluluğu gibi) ve bu mutasyona sahip bireylerde amiloidoz gelişimi arasında bağ kurulmuştur (Mimouni vd 2000, Tekin vd 2000, Mansour vd 2001).

Yapılan çalışmalarda amiloidoz gelişimi için sadece M694V mutasyonunun değil diğer mutasyonların da etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Günümüzde FMF hastalığının şiddeti ve en ağır komplikasyonu olan amiloidoz gelişiminde *MEFV* geni mutasyonlarının yanı sıra bazı düzenleyici genlerin ve netlik kazanmayan çevresel faktörlerin varlığı tartışılmaktadır (Balcı vd 2002).

2.4 KLİNİK BULGULAR

Hastalık ateşli, ağrılı ataklarla karakterize olup 38,5-40C° arasındaki yüksek ateşe, periton, plevra ya da sinoviyum seröz membranlarından birinde oluşan inflamasyonun neden olduğu ciddi karın, göğüs veya alt ekstremitenin geniş eklemlerinden birinin ağrısı eşlik eder. Hastalar genellikle atakları başlatan bir etken tarif etmezler ancak FMF ataklarının bazı hastalarda menstruasyon, duygusal stres veya ağır fiziksel aktivite dönemlerine rastladığı görülür (Ben-Cherit vd 1998).

FMF hastaları klinik olarak iki fenotipe ayrılır. Hastalarının büyük bir çoğunluğunda ateş, karın ağrısı ve inflamasyon atakları gibi semptomlar gözlemlendikten sonra amiloidoz gelişimi görülmektedir. Bu tip hastalar fenotip I olarak gruplandırılmaktadır. Bazı vakalarda ise FMF semptomları ortaya çıkmadan ileri yaşlarda (13-15 yaş) renal amiloid geliştiği gözlenmektedir. Fenotip II olarak gruplandırılan bu hastalarda amiloidoz oluşana kadar hastalık asemptomatiktir (Balcı vd 2002).

Soğuk ortam, yağlı yiyecekler ve gebeliğin de atakları arttırabileceği ileri sürülmüştür (Bernot vd 1998). Ataklar çoğunlukla 1-3 gün sürer. Hastaların yarıya yakını yılda 10-30 atak geçirir. Ataklar arasında asemptomatik dönem izlenir. Hastalık, genellikle çocukluk döneminde veya genç erişkinlikte ortaya çıkar. Hastaların %75'i ilk 10 yaşta, %80'i ilk 20 yılda atakla karşılaşır, 40 yaşından sonra ilk atağın görülmesi çok seyrek (El-Shanti vd 2003). Hastalığın başlangıç yaşının geç olması, klinik olarak daha iyi seyirli bir hastalığa işaret eder.

Ateş, hastaların ortalama %90'ında görülür. FMF'de atak süresince ateş genellikle 38 dereceden yüksektir. Birkaç saatten 4 güne kadar yüksek kalabilir fakat genellikle 24 saatte düşer. Kolşisin kullanan hastalarda nöbetlerinde ateş olmayabilir (Ben-Cherit vd 1998; Samuels vd 1998).

Abdominal Ataklar Hastalarda gözlenen en yaygın semptomlardandır ve yaklaşık %90'ında gözlenir. Yaygın abdominal ağrı olabileceği gibi abdominal bölgeyi tutan kas ağrıları ve apandisit benzeri tüm karın bölgesine yayılan ağrılar da olabilir. Atak ardından hastaların %30'a yakınına diyare gözlenir. Bu semptom genelde 2-20 saat içerisinde hafifler ve ortalama 24-48 saat içerisinde kaybolur (Ben-Cherit vd 1998, Samuels vd 1998).

Plevral Ataklar Hastaların %15-30'unda plevral atak oluşur. Ataklar akut şekilde gelişir, solunum seslerinde azalma gözlenir. Kalp ve göğüs ağrısı gözlenebilir, kısa sürede semptom kendiliğinden kaybolur (Tunca vd 2005).

Perikardit FMF hastalarında nadir görülen bir semptomdur. Ataklar 1-3 gün içerisinde kendiliğinden kaybolur (Tunca vd 2005).

Artiküler Ataklar FMF' de en yaygın olan ikinci semptomdur. Akut olarak yüksek ateş eşliğinde genelde 24 saat sürer. Genellikle diz ve ayak bileği daha az sıklıkta omuz dirsek ve el bileği gibi bölgeleri tutar ve 24-48 saat içerisinde kaybolur (Yalçınkaya vd 1997; Sohar vd 1967). Tutulan bölgeler oldukça ağrılıdır ve eklem hareketlerini kısıtlayabilir. Kısmen kızarıklık ve ısı artışı gözlenebilir. Ataklar hafif travmalarda ve yoğun efor sarf edilen yürüyüşlerle daha çok ortaya çıkar. Synoviyal sıvı steril ve nötrofil içeriği açısından oldukça zengindir.

Kas Ağrıları FMF'de çocuk hastaların %10'unda orta derecede kas ağrısı gözlenmektedir. Özellikle bacaklarda diz altı bölgesinde fiziksel egzersiz sonrası bir gün ve daha az süreli ağrılar oluşur. İlk kez Langevitz ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptıkları bir çalışmada FMF hastalarında fibril miyalji sendromu tanımlanmıştır. Bu sendrom periton irritasyonu olmaksızın karın ağrısı, artmış ateş, miyalji, yüksek sedimentasyon oranı, lökositoz ve hiperglobulinemi ile kendini gösterir (Langevitz vd 1994).

Cilt bulguları Genelde sıklıkla karşılaşılan deri bulgusu bacak ön yüzünde, ayak bileğinde veya ayak sırtında deriden kabarık tek taraflı, sıcak hassas, keskin sınırlı kırmızı plaklarla seyreden erizipel benzeri eritem olarak adlandırılan döküntülerdir (Sohar vd 1967).

Vaskülit-glomerulonefrit FMF hastalarında, otoimmün bir hastalık olmamakla birlikte vaskülitlerin eşlik etme sıklığı artmıştır. FMF'de belirlenmiş klasik bulguların yanı sıra sık olmasa da tanıya götürebilecek spesifik bulgular görülebilir. Bu bulgular skrotal inflamasyon, nörolojik belirtiler ve splenomegali olarak sayılabilir (Örün vd 2003).

Amiloidoz FMF'in en ciddi ve ölümcül komplikasyonu nefropatik Amiloid A (AA) tip amiloidozistir ve tedavi edilmeyen hastaların çoğu (%90) 40 yaşına kadar amiloidoz geliştirir (Fietta vd 2004). AA tip amiloidozda AA protein olarak adlandırılan amiloid protein akut faz proteinlerinin bir grubu olan serum amiloid A (SAA) proteininden türevlenmektedir.

Serum Amiloid A (SAA) proteini hepatosit, fibroblast ve monositlerden sentezlenen 104 aminoasitli bir akut faz reaktanıdır. İnflamatuvar durumlarda serum düzeyi normalin 100-1000 katı artar. Fazla SAA proteinin yıkılması ile suda çözünmeyen 76 aminoasitlik amino terminali dokularda hücre dışında birikmekte ve organ fonksiyonlarında bozulmaya neden olmaktadır (Ben-Chetrit vd 1998; OMIM).

Amiloidoz gelişmesini kolaylaştıran faktörler:

- 1- Ailede amiloidoz öyküsü
- 2- Anne-baba arasında akrabalık
- 3-Erkek cinsiyet
- 4- Artritin önde gelen bulgu olması

Etnik özellik amiloidoz gelişmesini etkiler. FMF' de amiloidoz, bir çalışmada Sefardik Yahudilerinde %37, Non-Askenazi Yahudilerinde %27, Türklerde %12, Ermenilerde %24 olarak bildirilmiştir(Balcı vd 2002). FMF amiloidozunda böbrek dışında adrenal (adrenal yetmezlik), mide-barsak (emilim bozukluğu, ishal), dalak (splenomegali), karaciğer (hepatomegali, tiroit (guatr, hipotiroidi), nadiren kalp yetmezliği, akciğer ve testislerde amiloid birikimi meydana gelebilmektedir (Erdogan vd 2002).

2.5 AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ TANI KRİTERLERİ VE TEDAVİ

FMF, klinik tanı kriterlerine ve moleküler yöntemlere bakılarak tedaviye başlanan bir genetik hastalıktır. Klinik tanıyı koyma yönünde geliştirilmiş olan üç farklı kriterler grubu vardır. Bunlardan en geçerli ve kullanışlı olan Tel-Hashomer tanı kriterleridir (Zemer vd 1974).

FMF için Tel- Hashomer Kriterleri

• *Major kriterler:*

- Peritonit, plevrit veya sinovitin eşlik ettiği tekrarlayan ateş epizodları
- Neden olmaksızın AA tipi amiloidoz
- Devamlı kolşisin tedavisine iyi yanıt

• *Minör kriterler:*

- Tekrarlayan ateşli ataklar
- Erisipel benzeri eritem
- Birinci derece akrabalarda FMF öyküsü

Hastada 2 majör veya 1 majör ve 2 minör kriterin mevcut olması durumunda kesin tanı, 1 majör ve 1 minör kriterin bulunmasında ise muhtemel tanı koyulur ve hastanın kolşisine cevap verip vermemesine göre kesin tanıya gidilir (Livneh vd 1997).

FMF'e yönelik tedaviler 1973 yılına kadar ağrıyı hafifletmek veya kesmek yönünde yapılan girişimlerden ibaretti. 1972 yılında Goldfinger tarafından kolşisinle tedavi önerilmiş ve 1974 yılında Zemer ve ark.'nın çalışmalarıyla bu tedavi günümüze kadar en yaygın kullanılan yöntem olmuştur (Goldfinger vd 1972, Zemer vd 1974).

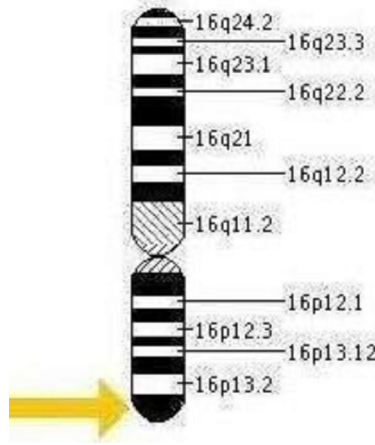
Kolşisin yüksek konsantrasyonda bulunduğu nötrofil mikrotübüllerini tespit ederek yeni mikrotübüllere polimerizasyonu, hücre içi taşınımı, mitozu, yangı aracı salınımını ve kemotaksisi önler. İnflamasyon bölgesine lökosit transferini engeller. Ayrıca membran üzerindeki adezyon moleküllerinin (endotel hücrelerinde E-selektin, nötrofillerde L-selektin) ifadesini azaltarak nötrofillerin hedef serozal dokulara bağlanmasını engeller (Centola vd 2000, Pras vd 1992).

Kolşisin tedavisine yanıtındaki bireysel farklılıkların genetik yatkınlık ve çevresel faktörlere bağlı olduğuna dair pek çok çalışma vardır (Saatçi vd 1997). Ancak temel olarak kolşisinin etkinliği 3 faktöre bağlıdır. Bunlardan ilki tedaviye başlanma anındaki böbrek hastalığının

düzevidir. İkinci faktör uygulanan ilaç dozudur. Üçüncü faktör ise tedaviye başlanıldığı andaki histopatolojik bulgulardır (Saatçi vd 1997, Livneh vd 1994).

2.6 GENETİK

1992 yılında 16. kromozomun kısa kolu üzerinde (16p13.3) lokalize olduğu pozisyonel klonlama tekniği ile saptanan *MEFV* geninin iki ayrı konsorsiyum tarafından eş zamanlı olarak 1997 yılında moleküler dizisi bulunmuştur. *MEFV* geni bulunduktan sonra moleküler çalışmalar kısa sürede hız kazanmıştır (Fransız FMF Konsorsiyumu, 1997; Uluslararası FMF Konsorsiyumu,1997; (Levy vd 1996, Pras vd 1992).



Şekil 2.1. 6. kromozomda FMF geninin (*MEFV*) lokalizasyonu

Genomda 15 kb'lık bir bölge içeren ve 10 ekzondan oluşan *MEFV* geni 3700 baz çiftlik (bç) bir mRNA kodlamaktadır. Protein çalışmalarında daha çok nötrofil ve monositlerde ifade olduğu kanıtlanmıştır. Protein iki ayrı konsorsiyum tarafından farklı isimlerle adlandırılmıştır.

Bunlardan Uluslararası FMF Konsorsiyumu proteine Yunanca bir kelime olan ve “ateş” anlamına gelen “Pyrin”, Fransız FMF Konsorsiyumu ise Latince bir kelime olan ve “bizim deniz” anlamına gelen “Marenostrin” adını vermiştir. Günümüzde her iki isimlendirme de halen kullanılmaktadır. *MEFV* genindeki 10 ekzon ve 9 intronun toplamı

14600 baz çiftidir ve intron-ekzon ile ilgili bilgiler Tablo 2.1.'de verilmektedir (www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/fiche1.php).

Tablo 2.1: *MEFV* geni genel yapısı

Gen Adı:	MEFV (Mediterranean FeVer)	
Protein	Pyrin/Marenostrin	
Transkript pozisyonu:	chr16:3292313-3306912 (16p13.3)	Uzunluk 14.600 bç
Kodlanan DNA dizi analizi pozisyonu:	hr16:3293426-3306872	Uzunluk 13.447 bç
Ekzon/İntron numarası:	Pozisyon	Uzunluk (bç)
Ekzon #1	3306914 – 3306596	317
Intron #1	3306597 – 3305076	1522
Ekzon #2	3305077 – 3304443	633
Intron #2	3304444 – 3300066	4379
Ekzon #3	3300067 – 3299716	350
Intron #3	3299717 – 3299290	428
Ekzon #4	3299291 – 3299194	96
Intron #4	3299195 – 3297532	1664
Ekzon #5	3297533 – 3297301	231
Intron #5	3297302 – 3296833	470
Ekzon #6	3296834 – 3296810	23
Intron #6	3296811 – 3294874	1938
Ekzon #7	3294875 – 3294758	116
Intron #7	3294759 – 3294572	188
Ekzon #8	3294573 – 3294539	33
Intron #8	3294540 – 3294178	363
Ekzon #9	3294179 – 3294148	30
Intron #9	3294149 – 3293983	167
Ekzon #10	3293984 – 3292313	1670
	Ekzonlar toplam (mRNA)	3499

2.6.1 MEFV GEN MUTASYONLARI

2009 yılı FMF veri tabanında 186 gen değişimi bildirilmiştir (Tablo 2.1.) (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>). Mutasyonların çoğu yanlış anlamlı mutasyon şeklinde olup, proteinin yapısını ve fonksiyonunu değiştirmektedir. İlk saptanan mutasyonlar M694V, V726A, ve M680I'dır. Daha sonraları birçok mutasyon saptanmıştır.

M694V mutasyonu, 10. ekzondaki 2080. nükleotidde adeninin yerini guaninin alması sonucu metiyonin amino asidinin yerine valinin gelmesi sonucu ortaya çıkan bir yanlış anlamlı mutasyondur. M694V mutasyonu Sefardik Yahudileri, Ermeniler, Türkler ve Araplarda en sık rastlanan mutasyondur (Brik vd 1999, Centola vd 1998) Türklerde %43.5 oranındadır (Akar vd 2000).

V726A mutasyonu, 10. ekzonda 2177. nükleotidde timinin yerini sitozinin alması sonucu valinin yerine alaninin gelmesi sonucu oluşan yanlış anlamlı bir mutasyondur. V726A mutasyonu, Askenazi Yahudileri'de en sık (%38) gözlenen MEFV gen mutasyonudur, Ermeniler ve Irak Yahudileri'nde de sık görülür(Ehrlich vd 1998, Stoffman vd 2000). Türklerde %11.1 oranındadır (Akar vd 2000).

M680I mutasyonu, 10.ekzonda 2040. nükleotidde guaninin yerini adenin veya sitozinin alması sonucu metiyoninin yerine izolösin gelmesi ile oluşan yanlış anlamlı bir mutasyondur. Türklerde görülme sıklığı %12 bulunmuştur (Akar vd 2000).

Amiloidozlu hastalarda en sık M694V homozigotluğunun olması bu mutasyonun amiloidoza yatkınlık oluşturduğu sonucunu ortaya koymuştur (Tekin vd 2000, Medlej-Hashim vd 2004).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise FMF'e bağlı amiloidozlu 18 hastanın hiçbirinde M694V homozigot saptanmamıştır. 11 tanesinde bir alelde V726A mutasyonu bulundu. Aynı genotipte, aynı aileden olan bireylerin birinde amiloidoz gelişirken diğerinde gelişmeyebileceği ortaya konulmuştur (Tekin vd 2000).

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 (Cattan vd 1996).

MEFV geninde bugüne kadar saptanmış olan mutasyonlar Tablo 2.2’de verilmiştir.
<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>

Tablo 2.2. *MEFV* geninde nükleotid-aminoasit değişimleriyle beraber Türklere tanımlanmış olanlar (*) işaretli olarak gösterilmiştir.

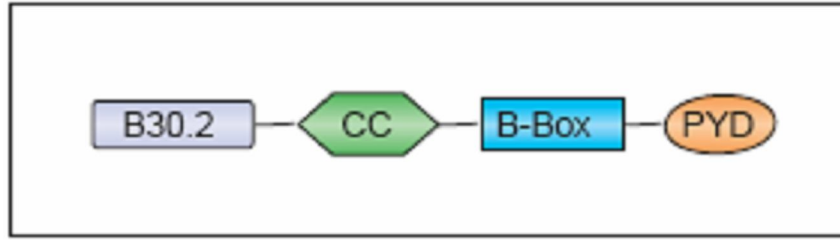
EKZON	KODON (AMİNOASİT DEĞİŞİMİ)	NÜKLEOTİD DEĞİŞİMİ	TÜRKLERDE BELİRLENENLER
1	R42W (p.Arg42Trp)	c.124C>T	
1	A89T (p.Ala89Thr)	c.265G>A	
2	S108R (p.Ser108Arg)	c.322A>C	
2	L110P (p.Leu110Pro)	c.329T>C	
2	334_335insG (p.Glu112fsX130)	c.334_335insG	
2	P124H (p.Pro124His)	c.371C>A	
2	390_391insGAGGGGAAC (p.Glu128_Asn130dup)	c.382_390dup	
2	S141I (p.Ser141Ile)	c.422G>T	*
2	R143P (p.Arg143Pro)	c.428G>C	
2	E148Q (p.Glu148Gln)	c.442G>C	
2	E148V (p.Glu148Val)	c.443A>T	*
2	A149T (p.Ala149Thr)	c.445G>A	
2	R151S (p.Arg151Ser)	c.453G>C	*
2	E163A (p.Glu163Ala)	c.488A>C	
2	E167D (p.Glu167Asp)	c.501G>C	
2	A171T (p.Ala171Thr)	c.511G>A	
2	P175H (p.Pro175His)	c.524C>A	
2	T177I (p.Thr177Ile)	c.530C>T	
2	S179I (p.Ser179Ile)	c.536G>T	*
2	P180R (p.Pro180Arg)	c.539 C>G	
2	G196W (p.Glu196Trp)	c.586G>T	
2	R202Q (p.Arg202Gln)	c.605G>A	
2	606_621dup (p.Ser208AlafsX39)	c.606_621dup	
2	E225D (p.Glu225Asp)	c.675G>C	
2	E230K (p.Glu230Lys)	c.688G>A	
2	G236V (p.Gly236Val)	c.707G>T	
2	S242R C>G (p.Ser242Arg)	c.726C>G	
2	S242R C>A (p.Ser242Arg)	c.726C>A	
2	E251K (p.Glu251Lys)	c.751G>A	

EKZON	KODON (AMİNOASİT DEĞİŞİMİ)	NÜKLEOTİD DEĞİŞİMİ	TÜRKLERDE BELİRLenenLER
2	761_764dup (p.Asn256ArgfsX70)	c.761_764dupCCGC	*
2	I259V (p.Ile259Val)	c.775A>G	*
2	T267I (p.Thr267Ile)	c.800C>T	
2	A268V (p.Ala268Val)	c.803C>T	
2	R278P (p.Arg278Pro)	c.833G>C	
2	P283R (p.Pro283Arg)	c.848C>G	*
2	P283L (p.Pro283Leu)	c.848C>T	
2	A289V (p.Ala289Val)	c.866C>T	
2	E299G (p.Glu299Gly)	c.896A>G	
2	G304R (p.Gly304Arg)	c.910G>A	*
3	T309M (p.Thr309Met)	c.926 C>T	
3	E319K (p.Glu319Lys)	c.955G>A	
3	R329H (p.Arg329His)	c.986G>A	
3	S339F (p.Ser339Phe)	c.1016C>T	*
3	R348H (p.Arg348His)	c.1043G>A	
3	R354W (p.Arg354Trp)	c.1060C>T	
3	P369S (p.Pro369Ser)	c.1105C>T	
3	Q383K (p.Gln383Lys)	c.1147C>A	
3	R408Q (p.Arg408Gln)	c.1223G>A	
4	I423V (p.Ile423Val)	c.1267A>G	
4	Q440E (p.Gln440Glu)	c.1318C>G	
5	A457V (p.Ala457Val)	c.1370C>T	*
5	V469L (p.Val469Leu)	c.1405G>T	
5	E474K (p.Glu474Lys)	c.1420G>A	
5	H478Y (p.His478Tyr)	c.1432C>T	
5	F479L (p.Phe479Leu)	c.1437C>G	
5	V487M (p.Val487Met)	c.1459G>A	
5	R501G (p.Arg501Gly)	c.1501C>G	
5	R501H (p.Arg501His)	c.1502G>A	
5	I506V (p.Ile506Val)	c.1516A>G	*
5	I513T (p.Ile513Thr)	c.1538T>C	
5	G514E (p.Gly514Glu)	c.1541G>A	
7	L559F (p.Leu559Phe)	c.1675C>T	
8	T577S (p.Thr577Ser)	c.1729A>T	
8	M582L (p.Met582Leu)	c.1744A>C	
9	I591T (p.Ile591Thr)	c.1772T>C	
9	A595V (p.Ala595Val)	c.1784C>T	
10	G632S (p.Gly632Ser)	c.1894G>A	
10	I640M (p.Ile640Met)	c.1920C>G	
10	I641F (p.Ile641Phe)	c.1921A>T	*

EKZON	KODON (AMİNOASİT DEĞİŞİMİ)	NÜKLEOTİD DEĞİŞİMİ	TÜRKLERDE BELİRLenenLER
10	P646L (p.Pro646Leu)	c.1937C>T	
10	L649P (p.Leu649Pro)	c.1946T>C	
10	R653H (p.Arg653His)	c.1958G>A	
10	E656A (p.Glu656Ala)	c.1967A>C	
10	D661N (p.Asp661Asn)	c.1981G>A	*
10	S675N (p.Ser675Asn)	c.2024G>A	
10	G678E (p.Gly678Glu)	c.2033G>T	
10	M680L (p.Met680Leu)	c.2038A>C	
10	M680IGC (p.Met680Ile)	c.2040G>C	
10	M680IGA (p.Met680Ile)	c.2040G>A	
10	T681I (p.Thr681Ile)	c.2042C>T	
10	Y688C (p.Tyr688Cys)	c.2063A>G	
10	Y688X (p.Tyr688X)	c.2064C>G	
10	I692DEL (p.Ile692del)	c.2076_2078del	
10	M694V (p.Met694Val)	c.2080A>G	
10	M694L (p.Met694Leu)	c.2080A>T	*
10	M694DEL (p.Met694del)	c.2081_2083del	
10	M694I (p.Met694Ile)	c.2082G>A	
10	K695R (p.Lys695Arg)	c.2084A>G	
10	K695M (p.Lys695Met)	c.2084A>T	*
10	S702C (p.Ser702Cys)	c.2105C>G	
10	V704I (p.Val704Ile)	c.2110G>A	
10	P705S (p.Pro705Ser)	c.2113C>T	
10	R708C (p.Arg708Cys)	c.2122C>T	
10	L709R (p.Leu709Arg)	c.2126T>G	*
10	R717S (p.Arg717Ser)	c.2149C>A	
10	I720M (p.Ile720Met)	c.2160C>G	
10	V726A (p.Val726Ala)	c.2177T>C	
10	F743L (p.Phe743Leu)	c.2229C>G	
10	A744S (p.Ala744Ser)	c.2230G>T	
10	S749C (p.Ser749Cys)	c.2246C>G	
10	I755V (p.Ile755Val)	c.2263A>G	
10	P758S (p.Pro758Ser)	c.2272C>T	
10	R761H (p.Arg761His)	c.2282G>A	*
10	I772V (p.Ile772Val)	c.2314A>G	
10	P780T (p.Pro780Thr)	c.2338C>A	

2.6.2 PYRİN / MARENOSTRİN

Pyrin, apoptoz ve inflamasyonun regülasyonunda yer alan proteinlerin sınıfına aittir. Pyrin proteininin FMF'deki fonksiyonu henüz iyi anlaşılammış olmasına rağmen inflamasyonu direkt veya indirekt baskılayıcı işlevi olduğu düşünülmektedir. İlk klonlandığında pyrinin N terminal bölgesi (domaini) dizi veritabanlarında diğer proteinlerle ilişkili bulunmuştur. Günümüzde ise ilk 92 aminoasitlik kısım **pyrin bölgesi (domain)** olarak bilinmektedir.



Şekil 2.1.. Pyrin proteininde alt birimlerin şematik gösterimi

Pyrin, Tripartite motif (TRIM) protein ailesine dahildir. TRIM familyası proteinler bir RING alt birimi, B-kutusu (B-box) olarak adlandırılan bir veya iki çinko bağlayıcı alt birim ve bir yumaksı sarmal (coiled-coil) alt birim olmak üzere üç alt birime sahiptirler. Pyrin (TRIM 20) TRIM ailesinin RING alt birimi içermeyen atipik bir üyesidir. Bununla birlikte B-kutusu, yumaksı sarmal ve B30.2 alt birimlerini içerir. B30.2 alt birimi pyrinin C-terminalinde yaklaşık 200 amino asitlik bir alt birimdir ve protein-protein etkileşimlerine aracılık eder. Pyrinin N-terminali, apoptoz ve inflamasyonda yer alan bir çok proteinle homoloji göstermekle birlikte, N-terminalindeki yaklaşık 90 amino asitlik bölgesi PYRIN, PYD, PAAD veya DAPIN olarak adlandırılmaktadır (Chae vd 2003). PYD alt birimi ölüm domeini (DDs), ölüm efektör domeini (DEDs) ve Kaspaz toplanma bölgesi (CARDs) içermektedir. DD, DED ve CARD domeinleri apoptozis ve inflamasyon görev alan, protein-protein etkileşiminden sorumlu alt birimlerdir (Fairbrother vd 2001).

Pyrinin bir transkripsiyon faktörü olarak proinflamatuvar faktörleri kodlayan genlerin ekspresyonunu inhibe ederek yada antiinflamatuvar proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu aktive ederek işlev gösterdiği iddiasını desteklemektedir. Pyrinin B30.2

bölgesinde mutasyonların çoğunun lokalize olması, bu mutasyonların pürin aktivitesinin kontrolünün aksamasıyla inflamasyona yol açabileceğini düşündürür (Chae vd 2006).

2.7. MOLEKÜLER TEKNİKLER

2.7.1. DNA EKSTRAKSİYONU

DNA'lar, kan örneklerinden fenol/kloroform yöntemiyle ekstrakte edilmiş ve etanol ile muamele edilerek çöktürülmüştür.

2.7.2. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) spesifik bir DNA dizisinin in-vitro ortamda çoğaltılması yöntemidir. İlk kez 1983 yılında Kary Mullis tarafından geliştirilen bu yöntem bir polimeraz enzimiyle gerçekleştirildiği için polimeraz zincir reaksiyonu adını almaktadır. PCR, hücreden arındırılmış bir yöntem olarak, DNA klonlamasını kolaylaştırarak, rekombinant DNA araştırmalarının güçlü bir tekniği olmuştur ve pek çok durumda, konakçı hücrelerin kullanıldığı klonlamanın yerini almıştır.

PCR, DNA molekülleri topluluğunda, özgül hedef DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılmasına dayanır ve bu yöntemin uygulanabilmesi için yok denecek kadar DNA bile yeterlidir. PCR ile belirli bir bölgeyi çoğaltabilmek için, hedef DNA'nın nükleotid dizisi hakkında bazı bilgiler gerekir. Bu bilgi, tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanacak olan iki oligonükleotid primerin sentezi için kullanılır. Bu primerler, çoğaltılacak tek zincirli DNA molekülündeki tamamlayıcı dizilerle hibridize olur. Isıya dayanıklı bir DNA polimeraz, deoksिनükleotid trifosfatları (dNTP) kullanarak çalışılan DNA'daki hedef bölgenin sentezini sağlar. Polimerazın çalışması için tampon görevi yapacak maddeler ve tuzlar (genellikle Tris ve KCl) ayrıca önemli bir kofaktör olan Mg^{+2} iyonları gereklidir (Klug vd 2000).

PCR reaksiyonu temel olarak üç aşamadan oluşmaktadır. Bunlar, DNA'nın yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon), son olarak zincirin uzaması (polimerizasyon)'dur. Bu üç

aşamaya bir PCR döngüsü denir ve çoğaltılacak ürün miktarı bu döngünün tekrar sayısına bağlıdır. Bu döngü sayısı genellikle 30-40 arasındadır. Oluşturulan DNA zincirlerinin sayısı her döngüde iki katına çıkar ve yeni zincirler bir sonraki döngüde kalıp görevi görürler. Bir PCR işleminde “n” döngü sonunda kalıp DNA'nın istenilen bir bölgesi yaklaşık 2n kez çoğaltılmış olur. İşlem ısı dönüştürücüsü denilen makinelerde, önceden döngü sayısı ve sıcaklık koşulları belirlenen programlarla otomatik olarak gerçekleştirilir. Bu yöntemle; klonlama, dizi analizi, klinik tanı ve genetik taramalar gibi diğer işlemlerde kullanılmak üzere bol miktarda hedef DNA parçaları elde edilir (Akar vd 1999, Klug vd 2002).

PCR reaksiyonunda ilk aşamada çoğaltılacak olan çift zincirli DNA 90-95° C de yaklaşık 5 dakika ısıtılmak suretiyle denatüre olur ve tek zincirli hale getirilir. İkinci adımda sıcaklık 50-70°C arasında bir değere düşürülerek (bağlanma sıcaklığı) primerlerin tek zincirli DNA bağlanması sağlanır. 15-30 nükleotid uzunluğunda olan yapay oligonükleotidlerden oluşan bu primerler; çoğaltılacak DNA'nın sınırlandırılması için başlangıç noktası ve bitiş noktası olarak görev yaparlar. Üçüncü aşama olan DNA sentezi aşaması ise 70-75°C sıcaklıkları arasında gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, nükleotidleri 5' ucundan 3' ucuna doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını oluşturur (Öner vd 2002).

PCR reaksiyonu için kullanılan DNA polimeraz enzimi *Thermus aquaticus*'dan izole edilen ısıya dayanıklı Taq polimeraz enzimidir. Enzim, yüksek ısılarda iyi çalışması ve hızlı DNA sentezi yapması nedeni ile tercih edilmektedir. PCR' dan iyi sonuç alınabilmesi değişik faktörlere bağlı olarak değişir. Taq DNA polimerazın iyi çalışabilmesi için en etkin olduğu pH'ın tüm uygulama boyunca korunabilmesi en önemli faktörlerdendir. Bu amaçla reaksiyonlarda son konsantrasyon 10mM olacak şekilde Tris. HCl pH:8.4 tampon olarak kullanılmaktadır. PCR karışımında 50-60mM düzeyinde potasyum ve 100 µg/ml jelatin bulunmasının çoğalmayı önemli miktarda artırdığı saptanmıştır (Klug vd 2000).

Magnezyum (Mg) +2 değerlikli olup DNA polimeraz'ın çalışmasını sağlayan en önemli faktördür. Sahip olduğu pozitif yük sayesinde negatif yüklü DNA molekülleri arasına girerek oligonükleotidlerin DNA moleküllerine bağlanmasını kolaylaştırır. PCR reaksiyonunda diğer bir önemli faktör deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP)dır ve bunlar son konsantrasyonları 2 mM olacak şekilde kullanılmalıdır. Reaksiyon sırasında ortamda dTTP, dCTP, dATP, dGTP'nin bulunması gereklidir. Kullanılan her bir deoksinükleotid

trifosfatın (dNTP) konsantrasyonunun eşit olması doğru ürün elde edilmesi açısından önemlidir. dNTP'nin az miktarda kullanımı oluşan PCR ürününün miktarının azalmasına; fazla miktarda kullanımı ise yanlış oligonükleotid eşleşmesi sonucu hedef DNA dışındaki bölgelerin çoğalmasına neden olur. PCR spesifikliğinde oligonükleotidlerin uzunluğu önemli yer tutar. Optimal uzunluk Yaklaşık 15-30 nükleotid olmalıdır

2.7.3. RESTRIKSİYON ENDONÜKLEAZ ENZİMLERİYLE KESİM

PCR ürünlerinin incelenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden birisi PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz (RE) enzimleri ile muamele edilerek incelenmesidir. Restriksiyon endonükleazlar (RE), bakterilerden izole edilen, 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. Bakteriye istila eden viral DNA'yı parçalayarak, virüs enfeksiyonunu önlediği ya da kısıtladığı için bu ismi almışlardır. Esas görevleri, dışarıdan bakteriye giren ve bazı özel gen veya markörleri taşıyan genetik materyalleri ayrıştırarak mutasyonları engellemek ve türlerin genetik yönden stabilitesini korumaktır (Akar vd 1999, Klug vd 2000).

Restriksiyon endonükleaz enzimleri kısa DNA dizilimlerini özgül olarak tanıyan ve bu dizilimlere yakın bölgelerden veya bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden DNA'yı kesen yapılardır. Restriksiyon enzimleri DNA çift sarmalında kendilerine özgü tanıma dizilerini şeker ve fosfat omurgasından kırarlar ve bu şekilde DNA'yı manipule ederler (Akar vd 1999, Klug vd 2000).

Tanıma dizileri birçok restriksiyon enzimi için DNA zincirinin her iki iplikçiginde de aynıdır ve bunlar 'palindromik diziler' adını alır. Bakteriye özgü bu enzimler, çift sarmallı DNA üzerinde özgün bölgeyi tanırlar ve çift sarmallı DNA'nın her iki zincirindeki fosfodiester bağımlı keserek DNA'yı iki parçaya ayırırlar (Akar vd 1999).

Restriksiyon endonükleaz enzimleri adlandırılırken enzimin elde edildiği cinsin ilk harfi, daha sonra bakteri türünün ilk iki harfi ve son olarak bazen soya ait bir harfle birlikte ilk izolasyondan başlayarak Romen rakamıyla enzimin izolasyon sırası belirtilir. İzosizomerler ise; farklı mikroorganizmalardan elde edilip, DNA üzerinde aynı diziyi tanıyıp kesim yapan RE'lerdir (Akar vd 1999).

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Pediatrik Moleküler Genetik Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Moleküler Genetik Bilim Dalı'na FMF ön tanısıyla, mutasyon analizi için gönderilen ve ekzon 10 ve ekzon 2' de yapılan incelemede tek mutasyonu belirlenen veya mutasyon saptanamayan olgular çalışmaya dahil edilmiştir. DNA'ları çalışılacak bireylerin çalışmaya dahil edilmelerine dair onamları kendilerinden ve/veya ebeveynlerinden alınmıştır.

3.1. YÖNTEMLER

3.1.1. DNA Ekstraksiyonu:

Çalışma grubunu oluşturan hastalardan 1 cc 0.5M Etilendiamintetraasetik asitli (EDTA) (Sigma, ABD) polietilen tüp içerisine 9 cc kan örneği alınır. 50 cc'lik falkon tüpe konularak üzerine 1/2,5 oranında yani 25 cc RBC (Red Blood Cell) lizis solüsyonu [155 mM Amonyum Klorür (NH₄Cl) (Merck, Darmstadt, Almanya), 10 mM Potasyum Bikarbonat (KHCO₃) (Merck, Darmstadt, Almanya), 0,5 M Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)] ilave edilerek 15 dk buzda bekletilir. +4°C, 4000 rpm'de 15 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edildikten sonra süpernatant dökülür, çökelek üzerine tekrar RBC lizis solüsyonu ilave edilir. RBC lizis solüsyonu ile yıkama işlemine tüm eritrositler lize oluncaya kadar devam edilir. Kırmızı küreler elimine edildikten sonra geriye çekirdekli hücreler olan lökositler kalır. Geriye kalan bu lökositler üzerine beyaz küre hacminin 2,5 katı kadar Nükleaz Tamponu [10 mM Tris-HCl pH: 7,5 (Tris Base, Owl Scientific, ABD-HCl, Merck, Almanya), 400 mM NaCl (Merck, Darmstadt, Almanya), 2 mM EDTA eklenir. Bunun üzerine 20 µg/ml olacak şekilde Proteinaz K enzimi, son konsantrasyonu %0,5 olacak şekilde de %10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat, Sigma, ABD) ilave edilerek 37°C'lik su banyosunda bir gece bekletilir. Ertesi gün 1:1 oranında Fenol/Kloroform 25:24:1 oranlarıyla sırasıyla; Fenol (Merck, Almanya): Kloroform (Merck, Almanya): İzoamilalkol (Merck, Almanya) ilave edilerek 10 dk boyunca elde iyice çalkalanır. 10 dk

çalkaladıktan sonra 15 dk buza gömülü bekletilir. Daha sonra +4°C, 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edildiğinde belirgin iki faz ayrılır. Üstteki faz yani süpernatant dikkatlice başka bir tüpe alınır ve üzerine miktarın 1/10'u oranında 2 M Sodyum Asetat (Sigma, ABD) ve toplam hacmin 2 katı kadar %95'lik alkol (Tekel, Türkiye) ilave edilir. Tüp nazikçe çalkalanır, DNA görünür hale getirildikten sonra -20°C'de bir gece bekletilir. Ertesi gün +4°C, 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilir. Dikkatli bir şekilde süpernatant dökülür, DNA dipte çökelek halindedir. Tüp ağzı açık olarak 10 dk kurutulur. Kurutulan DNA 500 ml %70'lik etanol ile tekrar santrifüj edilir. Süpernatant dökülür ve DNA kurutulur. Etanol kokusu tümüyle gittikten sonra DNA üzerine TE solüsyonu (10 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA) eklenerek bir gece 37°C'lik su banyosunda bekletilerek çözülür. TE içerisinde çözünen DNA +4°C' de saklanır.

3.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

MEFV geni değişimlerinin belirlenmesinde kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu için yapılan PCR karışımında içeriği üretici firmalar arasında fark olsa da genellikle 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl (pH 8.3); 15 mM MgCl₂ bulunur. dNTP (Fermentas, Litvanya) karışımından 10 mM stok hazırlanır. Primerler (Metabion, Almanya) liyofilize olarak alınır, 100 µM olacak şekilde stok hazırlanır. Çoğaltılan bölge ile primerler Dizi 3.1'de gösterilmiştir.

MEFV geninin 2. ekzonu için her biri 0,1 µg/ml konsantrasyonunda iki primer seti kullanıldı:

Forward: 5'- ATCTTGGGCCCTAAACGTGG - 3'

Reverse: 5'- TCCTTCAGGTCCGCAGATGC - 3' (Metabion, Almanya)

MEFV geni 2. ekzon için polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklık şartları; 94°C'de 5 dakika, bunu izleyen 35 siklуста; 95°C'de 1 dakika, 58°C'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika, son siklуста 72°C'de 10 dakika olarak PCR cihazında gerçekleştirilmiştir (Techne, İngiltere). Polimeraz zincir reaksiyonu sonunda 658 bp uzunluğunda oligonükleotid ürün elde edilmiştir. Bu uzunluktaki PCR ürünleri için %1'lik agaroz jelle 5 µl PCR ürünü yüklenerek jelle görüntülenmiştir.

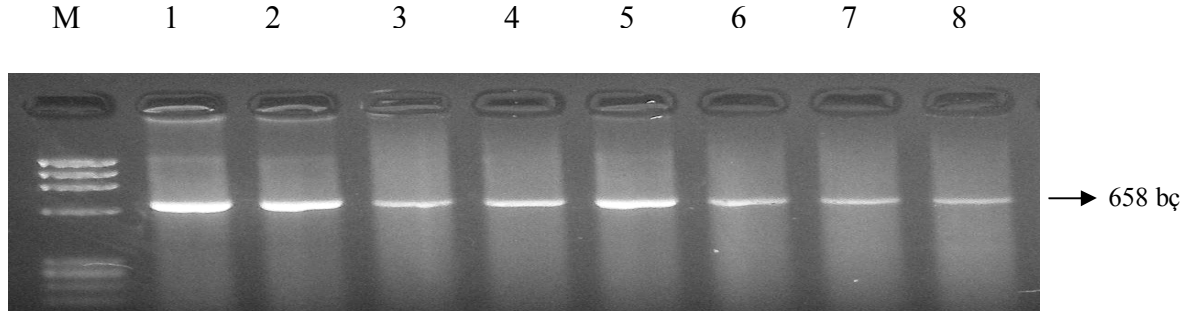
atctgggccctaaacgtgggacagcttcatcattttgcatctggtgtcctccagaatattccacacaagaaaacggcacagat
gattccgcagcgtccagctccctgggggagaacaagcccaggagcctgaagactccagaccaccccagggggaacgag
gggaacggccctcggccgtacggggggaggagctgccagcctgcggtgcagccagcccaggccggggagggggctgtcg
aggaagcccctgagcaaacgcagagagaaggcctcggaggggcctggacgcgcagggcaagcctcggacccggagccc
ggcctgccggggcgggagaagccccggccctgcagggcgctagagggggccagggcgaggtcgggtgcgcagaa
acgccagctccgccccggggaggctgcaggggctggccccggggcgccccggggcagaaggagtgcaggccctcgaagtgt
acctgccctcgggaaagatgcgacctagaagccttgaggtcaccatttctacaggggagaaggcgccccgcaatccaga
aattctctgactctagaggaagacagctgcgaatctggactcggcaacagaaccccgggcaagggccactccggat
ggaggggcatctcggacctgaaggaa

Dizi 3.1 *MEFV* geni 2. ekzonunun PCR ile çoğaltılan 658 bp'lik bölümü. 2. ekzon bölgesi kalın, primerler ise altı çizili olarak belirtilmiştir.

3.1.3. Agaroz Jel Elektrofrez

Agaroz (Sigma, ABD); kullanılacağı amaca uygun olarak belirli yüzdelerde hazırlanır. Biz bu çalışmamızda PCR ürünlerini %1'lik agaroz jelde değerlendirdik. %1'lik agaroz jel için 0,75 g agaroz tartılıp, TBE 1X (Tris-HCl, Borik asit, EDTA) solüsyonu ile 75 ml'ye tamamlandı. TBE 1X solüsyonu; TBE 5X solüsyonunun 1/5 oranında ddH₂O ile seyreltilmesiyle hazırlanır. TBE 5X solüsyonunun hazırlanışı; 54 g Trizma[®] (Sigma, ABD), 27,5 g Borik asit (Carlo Erba, İtalya), 20 ml 0,5 M EDTA (Sigma, ABD) ve deiyonize su (ddH₂O) ile 1 l'ye tamamlanarak hazırlanır. Agaroz istenilen yüzdelerde hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında (Beko, Türkiye) kaynatılır. Üzerine Etidyum Bromid'in (Sigma, ABD) %5'lik stok solüsyonundan 2'şer µl ilave edildikten sonra iyice karıştırılır ve jel tabağına (Qwl Scientific, ABD) dökülür. Jel dökülmeden önce jel tabağı uygun taraklar kullanılarak hazırlanır. Agarozun donması için yaklaşık 30 dk beklenir. Agaroz donduktan sonra jel tabağıyla birlikte jel elektrofrez tankına (Biometra, Almanya) yerleştirilir. Elektrofrez tankı TBE 1X solüsyonu ile jelin üstünü kapatacak şekilde doldurulur. PCR ürünlerinden 18 µl alınarak temiz bir parafilm (Parafilm, Chicago, ABD) üzerinde 3 µl Brom-Fenol Mavis (BBF, Merck, Almanya) ile karıştırılır ve jellere yüklenir. PCR ürünlerinin değerlendirilebilmesi ve reaksiyonun istenilen uzunluktaki doğru bölgeyi çoğalttığını görebilmek için marker (ΦX174 DNA-HaeIII BioLabs, ABD)

PCR ürünleriyle birlikte jele 2 µg kadar yüklenir.90-100 V akımda 20 dk kadar yürütülür. Ultraviyole ışık (Spectroline, ABD) altında incelenir ve fotoğraflanır (Çizelge 3.1.).



Çizelge 3.1. Ekzon PCR ürünlerinin elektroforez fotoğrafı. **M:** Marker (Φ X174 DNA-HaeIII), diğer örnekler ise (1-8) amplifiye edilen gen bölgesine ait 658 bç'lik PCR ürünlerini göstermektedir.

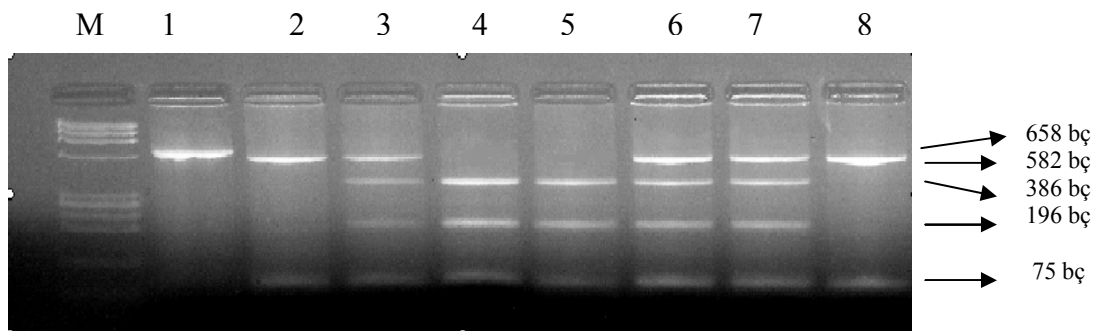
3.1.4. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz Enzimleriyle Muamelesi

3.1.4.1. *MEFV* 2. Ekzon R202Q (c.605 G>A) Gen Değişiminin PvuII ile İncelenmesi

MEFV geni 2. ekzonun PCR'ı ile elde edilen 658 bç'lik ürünler R202Q gen değişimini belirlemek amacıyla PvuII (5'-CAG↓CTG-3') restriksiyon endonükleaz enzimi (Fermantas, Litvanya) ile kesime tabi tutuldu. PvuII enzim kesim noktaları Tablo 3.1. de gösterilmiştir. 10mM Tris-HCl (37°C'de pH: 7.5), 10mM MgCl₂, 50mM NaCl ve 0.1 mg/ml BSA'dan oluşan restriksiyon endonükleaz tamponu ve 10 ünite restriksiyon endonükleaz enzimi PCR ürünleriyle muamele edilerek enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 37°C'de 16 saat inkübe edildi. Kesilen örnekler %3'lük agaroz jelde oluşan bant profillerine göre incelenmiştir. Enzimle kesim sonucunda homozigot normal örnekler (G/G) 582 ve 196, heterozigot örnekler (G/A) 582, 386, 196 ve 75, homozigot mutant örnekler ise (A/A) 386, 196 ve 75 bç uzunluğunda bantlar oluşturmaktadır (Çizelge 3.2).

Tablo 3.1. *MEFV* geni 2. ekzonunun PCR ile çoğaltılan 658 bç'lik bölümünde PvuII enzim kesim bölgeleri

Uzunluk	5' Enzim	5' Baz	3' Enzim	3' Baz	Sekans
386		1	PvuII	386	ATCTTGGGCC CTAACGTGG GACAGCTTCA TCATTTTGCA TCTGGTTGTC CTTCCAGAAT ATTCCACACA AGAAAACGGC ACAGATGATT CCGACGCGTC CAGCTCCCTG GGGGAGAACA AGCCCAGGAG CCTGAAGACT CCAGACCACC CCGAGGGGAA CGAGGGGAAAC GGCCCTCGGC CGTACGGGGG CGGAGCTGCCAGCCTGCGGT GCAGCCAGCC CGAGGCCGGG AGGGGGCTGT CGAGGAAGCC CCTGAGCAAA CGCAGAGAGA AGGCCTCGGA GGGCCTGGAC GCGCAGGGCA AGCCTCGGAC CCGGAGCCCG GCCCTGCCGG GCGGGAGAAG CCCC GGCCCC TGCAGGGCGC TAGAGGGGGG CCAGGCCGAG GTCCAG
196	PvuII	387	PvuII	582	CTGCGCAGAA ACGCCAGCTC CGCGGGGAGG CTGCAGGGGC TGGCGGGGGG CGCCCCGGGG CAGAAGGAGT GCAGGCCCTT CGAAGTGAC CTGCCCTCGG GAAAGATGCG ACCTAGAAGC CTTGAGGTCA CCATTTCTAC AGGGGAGAAG GCGCCCGCAA ATCCAGAAAT TCTCCTGACT CTAGAGGAAA AGACAG
75	PvuII	583		658	CTGCGAATCT GGA CTCTGGCA ACAGAACCCC GGGCAAGGCC CACTCCGGAT GGAGGGGCAT CTGCGGACCT GAAGGA



Çizelge 3.2: *MEFV* 2. ekzon R202Q (c.605 G>A) gen değişiminin PvuII ile kesimi

- M** : ϕ X174 DNA-HaeIII Marker
1 : Kesilmemiş PCR ürünü (uncut)
2, 8 : Homozigot normal (G/G)
3, 6, 7 : Heterozigot (G/A)
4, 5 : Homozigot mutant (A/A)

4. BULGULAR

3.1. *MEFV* 2. Ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) Gen Değişimi

Çalışma kapsamında yer alan 520 FMF hastasında, *MEFV* geni 2. ekzonda bulunan R202Q (c.605G>A) gen değişiminin genotip dağılımı Tablo 4.1.'de verilmiştir.

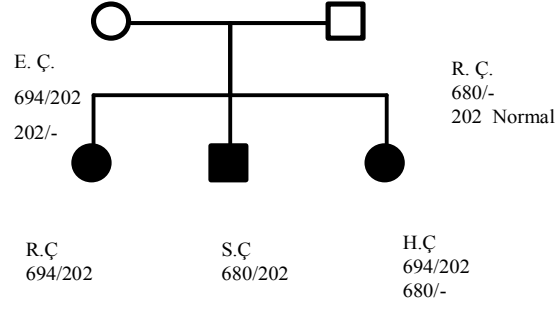
520 FMF hastasının 279'u GG (%54.0), 181'i GA (%35.0) ve 57'si AA (%11.0) genotipini taşımaktadır. Daha önceden belirlenen mutasyonlara göre R202Q dağılımına bakıldığında, M694V/- olan 139 hastanın 22'si GG (%16.0), 76'sı GA (%54.6), 41'i AA (%29.4), E148Q/- olan 31 hastanın 27'si GG (%87.1), 4'ü GA (%12.9), V726A/- olan 21 hastanın 18'i GG (%85.8), 3'ü GA (%14.2), M680I/- olan 21 hastanın 15'i GG (%71.4), 5'i GA (%23.8) ve 1'i AA (%4.8) genotipini taşımaktadır. E148Q/- ve V726A/- taşıyanlarda AA genotipi bulunmamıştır. Ayrıca mutasyon taşımayan 308 hastanın 197'si GG (%31.1), 96'sı GA (%31.1) ve 15'i (%4) AA genotipi taşımaktadır.

Tablo 4.1. 2.ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) gen değişiminin FMF hastalarındaki genotip dağılımı

	2. Ekzon R202Q (c.605 G>A p.Arg202Gln)		
	GG	GA	AA
FMF Hastası (n:520)	279 (%54,0)	181 (%35,0)	57(%11,0)
M694V/- (n:139)	22 (%16,0)	76(%54,6)	41 (%29,4)
E148Q/- (n:31)	27 (%87,1)	4 (%12,9)	-
V726A/- (n:21)	18 (%85,8)	3 (%14,2)	-
M680I/- (n:21)	15 (%71,4)	4 (%23,8)	1(%4,8)
Mutasyon taşımayanlar (n:308)	197 (%63,9)	96 (%31,1)	15(%4,0)

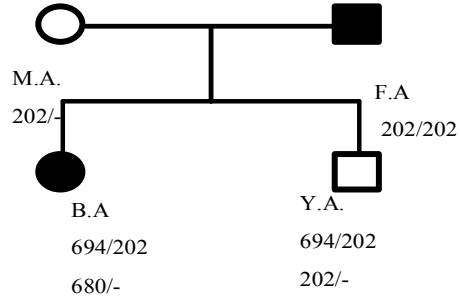
FMF veri tabanında R202Q gen değişiminin M694V mutasyonu ile *cis* konumunda bulunduğu ve birlikte kalıtıldığı bildirilmektedir (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infervers/search.php>). M694V mutasyonunu heterozigot taşıyan 139 hastanın 41'i AA (%29,4) genotipini taşıırken, 98'i (%70.6) G allelini taşımaktadır. M694/- olan 139 hastanın 41'i A allelini (%29.4), 22'si ise G allelini (%16.0) homozigot olarak taşımakta ve böylece ikinci bir haplotip ortaya çıkmaktadır. M680/- olan 21 hastanın 15'i G alelini homozigot olarak taşımaktadır. M680I mutasyonunu heterozigot taşıyan 21 hastanın 20'si G alelini taşıırken, 1 hastada farklı bir haplotip ortaya çıkmakta AA genotipini taşımaktadır.

Yaptığımız çalışmada *MEFV* geninde farklı haplotiplerinde olabileceğini gösterdiğinden çalışma kapsamında ayrıca 3 aile incelenmiştir.



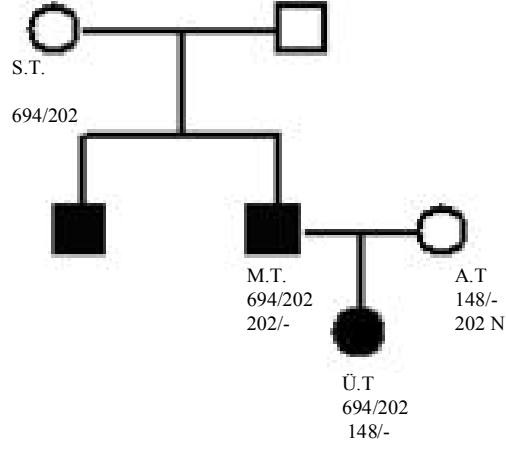
Şekil 4.1. 1 nolu ailenin aile ağacı

1 nolu ailede anne E.Ç. M694V mutasyonunu heterozigot olarak taşıırken R202Q gen değişimini homozigot olarak taşımaktadır. Baba R.Ç. M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşımaktadır ve R202Q gen değişimi normaldir. Çocuklardan R.Ç. M694V mutasyonunu heterozigot olarak taşıırken R202Q gen değişimi heterozigot olarak bulunmuştur. S.Ç. M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşıırken R202Q gen değişimi heterozigot olarak bulunmuştur. H.Ç. M694I mutasyonunu ve M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşımaktadır. R202Q gen değişimi heterozigot olarak bulunmuştur. Çocuklar R.Ç, S.Ç ve H.Ç FMF tedavisi görmekte olup kolşisin kullanmaktadırlar (Şekil 4.1.).



Şekil 4.2. 2 nolu ailenin aile ağacı

2 nolu ailede anne M.A. R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşımaktadır. Baba F.A R202Q gen değişimini homozigot olarak taşımaktadır. Çocuklardan B.A. M694V mutasyonunu ve M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşımaktadır. R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşımaktadır. Y.A. M694V mutasyonunu heterozigot olarak taşırken R202Q gen değişimini homozigot olarak taşımaktadır. F. A. ve B.A FMF tedavisi görmekte kolşisin kullanmaktadır. Y.A. da ise FMF belirtilerine rastlanılmamaktadır (Şekil 4. 2.) .



Şekil 4.3. 3 nolu ailenin aile ağacı

3 nolu ailede anne S.T M694V mutasyonunu ve R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşımaktadır. Çocuklardan M.T. M694V mutasyonunu heterozigot olarak taşıırken R202Q gen değişimini homozigot olarak taşımaktadır. M.T.'nin eşi A.T.10.ekzonda bir mutasyon taşımazken E148Q mutasyonunu heterozigot olarak taşımaktadır ve R202Q gen değişimi saptanamamıştır. Çocuk Ü.T. M694V mutasyonunu, R202Q gen değişimini ve E148Q mutasyonunu heterozigot olarak taşımaktadır. Baba M.T., onun erkek kardeşi ve çocuğu Ü.T. FMF tedavisi görmekte olup kolşisin kullanmaktadır (Şekil 4. 3.).

1 nolu ailede S.Ç.'nin M680I mutasyonunu ve R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşıyıp FMF hastalığı taşımaktadır. Bu haplotipin hastalık üzerinde etkisi olabileceği düşünölmüştür. R202Q değişimini heterozigot olarak taşıyıp M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşıyan hastalar çalışma kapsamında incelenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. 2. Ekzon R202Q (c.605G>A p.Arg202Gln) gen değişimini ve 10. Ekzon M680I mutasyonunu heterozigot olarak taşıyan FMF hastalarının genotip dağılımı

NO	HASTA ADI	2. EKZON R202Q	10. EKZON M680I	FMF TEDAVİ
1	A.C.	G/A	680/-	Kolşisin kullanmaktadır.
2	B.A	G/A	680/-	Kolşisin kullanmaktadır.
3	S.E.	G/A	680/-	Kolşisin kullanmaktadır.
4	S.Ç.	G/A	680/-	Kolşisin kullanmaktadır.

A.C., B.A., S.E. ve S.Ç. adlı hastalar M680I mutasyonunu ve R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşıyıp FMF tedavisi olarak kolşisin kullanmaktadırlar.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ailevi Akdeniz ateşi (AAA) (Familial Mediterranean fever, FMF, MIM249100), ateş ve seröz zarların (periton, sinovyum veya plevra) inflamasyonu ile karakterize, otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır (Sohar vd 1967). İlk olarak 1945'de Siegal tarafından klinik bir antite olarak tanımlanan hastalık, kalıtsal periyodik hastalıklar arasında en sık rastlanandır.

FMF' e neden olan genin (MEFV) 1997 de Fransız FMF Konsorsiyumu ve Uluslar arası FMF Konsorsiyumu tarafından yerinin belirlenmesi ve FMF'e neden olan mutasyonların bildirilmeye başlanması üzerine hastalığın yaygın olarak görüldüğü 4 etnik grupta (Türkler, Ermeniler, Araplar ve Yahudiler) mutasyon sıklıkları ve saptanan mutasyonların fenotiple ilişkisi araştırılmaya başlanmıştır. Touitou ve Ark. (2002) FMF'in prototipini oluşturduğu oto-immün hastalıklar için bir veri tabanı (Infevers) oluşturmuşlardır. (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers>). MEFV geni üzerinde bulunan yeni mutasyonlar ve genotip-fenotip ilişkisine dair araştırma sonuçları bu veri tabanında toplanmaktadır. İlk olarak yanlış anlamlı üç mutasyon, M694V, V726A ve M680I tanımlanmıştır. Bu mutasyonları takiben 1998'de 2. ekzonda (E148Q, E167D ve T267I) (Bernot vd 1998, Samuels vd 1998), 5. ekzonda (F479L) (Bernot vd 1998) ve 10. ekzonda (M694I, K695R, A744S, R761H, T681I, I692del ve M694del) (Consortium 1997, Bernot vd 1998, Booth vd 1998, Samuels vd 1998) yeni mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu güne kadar Infevers' de tanımlanmış 186 FMF mutasyonu bildirilmiştir.

Akar vd (2000)'de Türk FMF hastalarıyla yaptıkları çalışmada, Askenazi olmayan Yahudilerde yaygın görülen M694V mutasyonunun, allelerin %43.5'inde, daha çok Ermenilerde görülen M680I mutasyonunun allelerin %12'sinde, Askenazi, Irak ve Fas Yahudilerinde yaygın görülen V726A mutasyonunun ise allelerin %11.1'inde görüldüğü bildirilmiştir (Akar vd 2000).

Yalçinkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 167 hasta içerisinde, M694V mutasyonunu %41, M694I %17, M680I %16 ve V726A %14 olarak saptanmıştır (Yalçinkaya vd 2000).

MEFV geninde yer alan R202Q gen değişimi ilk olarak Bernot vd (1998) tarafından tanımlanmıştır. Sağlıklı kontrol kromozomlarında %20, FMF' li ailelerde mutasyon taşımayan kromozomlarda %15 ve 10. ekzon haricinde mutasyon bulunan kromozomlarda %16 olarak bildirilmiş ve bundan yola çıkılarak R202Q'nun yaygın görülen bir polimorfizm olabileceği ileri sürülmüştür (Bernot vd 1998).

FMF veri tabanında ise *MEFV* geni 2. ekzonda yer alan R202Q (c.605G>A) gen değişiminin M694V mutasyonu ile birlikte kalıtılan yaygın bir polimorfizm olduğu belirtilmektedir (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infervers/search.php>).

Ritis vd (2004)' de R202Q homozigot değişimi 26 FMF hastasından 4'nde tespit edilmiş ve bu hastaların, 2. ve 10. ekzonlarında mutasyon taşımadığı görülmüştür. 60 sağlıklı kontrolün 15 tanesinde R202Q heterozigot gen değişimi görülmüştür, R202Q homozigot gen değişimi saptanamamıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. R202Q gen değişiminin polimorfizmden çok mutasyon olabileceği ileri sürülmüştür (Ritis vd 2004).

Giaglis ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada R202Q gen değişimi 304 FMF' li hastanın 76'sında tespit edilmiştir. Sağlıklı kontrollerde ise 280 hastanın 40'ında tespit edilmiştir. R202Q gen değişimi 152 hasta bireyin 14'de tanımlanmıştır. 14 FMF hastasının 12 'si başka bir mutasyon taşımamaktadır. 12 hastanın 8' i FMF hastalığının semptomlarını taşımakta ve kolęisin tedavisi görmektedir. R202Q homozigotluğunun hastalıkla ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak R202Q gen değişimi yaygın olarak görülmektedir ve hastalığa sebep olmamaktadır. R202Q mutasyonunun sağlıklı bireylerde yaygın olmasının, bunun potansiyel doza bağlı etkisinin olduğunu göstermiştir (Giaglis vd 2007).

Miyoshi ve arkadaşları tarafından da E148Q mutasyonu incelenmiş, E148Q mutasyonunun FMF hastalarında kontrollere göre bulunma sıklığının yüksek olduğunu ve homozigot formunda hafif septomlar oluşturduğu rapor edilmiştir. Japon bayan bir hastada FMF hastalığı teşhisi koyulmuştur. Fakat bu hastada 10. Ekzon mutasyonu bulunmamaktadır. E148Q/R202Q mutasyon heterozigotluğu bu çalışmada gösterilmiştir. Bu alışma heterozigotluğun hastalıktan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (Miyoshi vd 2008).

Laboratuvarımızda Öztürk tarafından FMF hastalarıyla yapılmış olan çalışmada,. Amiloidli 2 olguda R202Q homozigot olarak saptanmıştır. Buna ilaveten kontrol grubunda, homozigot R202Q'nun beklenen değeri %3 olarak hesaplanmıştır. Fakat kontrol grubunda R202Q homozigotluğu bulunamamıştır. FMF ve kontrol grubu, R202Q'nun heterozigot formunu taşıma yönünden karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak hastalık açısından yaklaşık 2 katlık bir risk getirdiği saptanmıştır, kontrol grubunda da R202Q'nun sıklığının yüksek olduğu görülmüş, bu da heterozigotluk durumunda etkisinin olmadığını göstermiştir. Buna rağmen, hastalıkla ilişkili bir mutasyonla beraberliği durumunda hastalıkla ilgili klinik belirtiler oluştuğu gözlenmiştir (Öztürk vd 2008).

Yapmış olduğumuz çalışmada tek kromozomunda mutasyon taşıyan FMF 'li hastalar ve mutasyon taşımayan hastalar incelenmiş ve 3 aile değerlendirilmiştir. 1 nolu ailede çocuklardan R.Ç.'nin M694V mutasyonunu ve R202Q değişimini heterozigot taşıması ayrıca 3 nolu ailede M.T. nin M694V mutasyonunu heterozigot olarak taşıması, R202Q değişimini homozigot olarak taşıması, M694V mutasyonu ile R202Q gen değişiminin birleşik heterozigot durumunun hastalık yapıcı bir etkisi olduğunu göstermektedir. Çocuklardan S.Ç.'nin M680I mutasyonunu ve R202Q gen değişimini heterozigot taşıması ve kolşisin tedavisi görmesi M694V mutasyonu ile birlikte kalıtım göstermeyen, birden fazla haplotipin olduğu göstermektedir.

Ayrıca M680I mutasyonunu ve R202Q gen değişimini heterozigot olarak taşıyan 4 hastanın FMF semptomlarını taşıması, kolşisin kullanması, R202Q gen değişiminin M680I mutasyonu ile birleşik heterozigot durumunda hastalık yapıcı bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

FMF ön tanısıyla gelmiş, 10.ekzonunda mutasyon taşımayan ve R202Q değişimini homozigot olarak taşıyan hastalar görülmüştür. Bu durum R202Q'nun en azından bazı FMF hastalarında hastalıkla ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak R202Q gen değişimi, hastalıkla ilişkili bir mutasyonla beraberliği durumunda bu hastalıkla ilgili klinik belirtiler ortaya çıkarmaktadır. Bu da tanı için R202Q gen değişiminin önemli olduğunu vurgulamaktadır Türk toplumunda R202Q değişiminin rutin FMF analizlerine dahil edilmesi gerektiğini göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

Akar, N., (1999). Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş (Genişletilmiş ikinci baskı). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ank Tıp A.S Yayınları.

Akar, N., M. Mısıroğlu, et al. (2000). "MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean Fever." Hum Mutat 15(1): 118-9.

Balcı, B., K. Tınaztepe, et al. (2002). "MEFV gene mutations in familial Mediterranean fever phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood: a retrospective clinicopathological and molecular study." Nephrol Dial Transplant 17(11): 1921-3.

Barakat, MH., Mahlas, LN., Gumaa, KK., Catecholamine metabolism in recurrent hereditary polyserositis. Pathogenesis of acute inflammation: The retention leakage hypothesis. *Biomed Pharmacother* 1989; 43: 763-69.

Ben-Chetrit, E., Levy, M., (1998). Familial Mediterranean fever. *Lancet*, 998; 351: 659-664.

Bernot, A., C. da Silva, et al. (1998). "Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF)." Hum Mol Genet 7(8): 1317-25.

Brik, R., Shinawi, M., Kepten, I., et al. Familial Mediterranean Fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics* 1999;103:e70.

Cattan, D., Delpech, M., Fievre mediterraneenne familiale (maladie periodique): *Hepato-Gastro* 1996;3:369-76.

Centola, M., Aksentijevich, I., Kastner, DL., The hereditary periodic fever syndromes: Molecular analysis of a new family of inflammatory diseases. *Hum Mol Genet* 1998;7:1581-8.

Centola, M., G. Wood., et al. (2000). "The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators." Blood 95(10): 3223-31.

Chae, J. J., G. Wood, et al. (2006). "The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production." Proc Natl Acad Sci U S A 103(26): 9982-7.

Chae, J.J., Wood,G., Komarow, H.D., Raben, N., Liu, P.P., Kastner, D.L., 2003. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis: Molecular Cell 11:591-604

Chen, X., Fishel-Ghodsian, N., Hamon, M. (1998). Assessment of pyrin gene mutations in Turks with familial Mediterranean fever. Hum. Mutat.11: 456-460

Daniels, M., T. Shohat, et al. (1995). "Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non-Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel." Am J Med Genet 55(3): 311-4.

Dilsen, N., Ailevi Akdeniz Ateşi İç Hastalıkları Cilt 2 Editör Kemalettin Büyükoztürk, Bölüm 302. Nobel Tıp Kitabevi İstanbul 2007 Sayfa: 2767-2771

Ehrlich, GE., Genetics of Familial Mediterranean Fever and its implications. Ann Intern Med 1998;129:581-2.

El-Shanti, HI., Familial Mediterranean Fever and renal disease. Saudi J Kidney Dis Transpl 2003;14:378-85.

Erdoğan, Ö., Öner, A., 2002. Ailevi Akdeniz ateşi: T.Klin Pediatri 11:160-170

Fairbrother, W.J., Gordon, N.C., Humke, E.W., O'Rourke, K.M., Starovasnik, M.A., Yin, J.P., Dixit, N., 2001. The PYRIN domain: a member of death domain-fold superfamily: Protein Sci.10: 1911-1918

Fietta, P., 2004. Autoinflammatory diseases: the Hereditary periodic fever syndromes: Acta Bio. Medica. Ateneo Parmense.75; 92-99

Giaglis, S., V. Papadopoulos, et al. (2007). "MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever." *Clin Genet* 71(5): 458-67.

Goldfinger, S.E., 1972. Colchicine for familial Mediterranean fever: N. Engl J Med 287:1302

<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php>11.

Janeway, T.C., Rosenthal, H.O., 1908. Anusual paroxymal syndrome, probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism: Trans Assoc Am Pyhys 23:504-18

Kastner, D.L., Aksentijevich, I., Gruberg, L., Balow, J., Dean, M., Hampsch, K., Gazit, E., Kovo, M., Pras, M. (1991). Familial Mediterranean fever: a 90 markers exclusion map and evidence for linkage to chromosome 17. *Cytogenet Cell Genet*, 58: 2115

Klug, W., and M., Cummings (2000).Genetik Kavramlar.

La Regina M, Nucera G, Diaco M, et al. Familial Mediterranean Fever is no longer a rare disease in Italy. *Eur J Hum Genet* 2003;11:50-6.

Langevitz, P., Zemer, D., Livneh, A. et al. (1994).Protracted febrile myalgia in patients with familial Mediterranean fever. *Rheumatology*.21:1708–9.

Levy, E.N., Shen, Y., Kupelian, A., Kruglyak, L., Aksentijevich, I., Pras, E., Balow, J.E., Linzer, B., Chen, X., Shelton, D.A., Gumucio, D., Pras, M., Shohat, M., Rotter, J.I., Fischel-Ghodsian, N., Richards, R.I., Kastner, D.L. (1996). Linkage disequilibrium mapping places the gene causing familial Mediterranean fever close to D16S246. *Am J Hum Genet*, 58: 523- 534.

Livneh, A., Zemer, D., Langevitz, P., Laor, A., Sohar, E., Pras, M., Colchicine treatment of AA amyloidosis of familial Mediterranean fever. An analysis factors affecting outcome. *Arthritis Rheum* 1994;37:1804-11.

Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D., Zaks, S., Lidar, T., Migdal, A., Padeh, S., Pras, M. (1997) Criteria for the diagnosis of Familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*, 40: 1879-1885

Mansour, I., Delague, V., Cazeneuve, C., et al. Familial Mediterranean Fever in Lebanon: mutation spectrum, evidence for cases in Maronites, Grek orthodoxes, Greek catholics, Syriacs and Chiites and for an association between amyloidosis and M694V and M694I mutations. *Eur J Hum Genet* 2001;9:51-5.

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(4):1-6.

Mimouni, A., Magal, N., Stoffman, N., shohat, T., Minasian, A., Krasnov, M., Halpern, JG., Rotter, IJ., Fischer-Ghondsian, N., Danon, LY., Shohat, M., (2000). Familial Mediterranean Fever: Effect of Genotype and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis. *Pediatrics*, 105 (5) p.e 70

Miyoshi, T., K. Yamashita, et al. (2008). "Familial Mediterranean fever gene as a possible modifier of Sweet syndrome with chronic myelogenous leukemia." *Acta Haematol* **120**(1): 57

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(10): 2785-2793.

Oberkanins, C., Weinhausel, A., Kriegshauser, G., et al. Genetic testing for Familial Mediterranean Fever in Austria by means of reverse hybridization teststrips. *Clin Chem* 2003;49:1948-50.

Önen, F., 2006. Familial Mediterranean fever: *Rheumatol Int* 26:489-496

Öner, C., (2002). *Genetik Kavramlar.6. Baskıdan Çeviri*. Ankara: Palme Yayıncılık

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/7>. Kogan A, Shinar Y, Lidar M, Revivo A, Langevitz P, Padeh S,

Özen, S., Y. Karaaslan, et al. (1998). "Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study." *J Rheumatol* 25(12): 2445-9.

Öztürk" A, Elsayed M. S., Elsobky E., Alhodhod M., Akar N.2009 "Mefv Gene in Egyptian Patients Familial Mediterranean Fever." *Turk J Med Sci*, In press.

Örün, E., Yalçınkaya, F., 2003. Türk tıbbında Ailevi Akdeniz ateşi hastalığı ve amiloidoz: *Türk Nefroloji Dializ ve Transplantasyon Dergisi* 12:1-7

Öztürk, A., Özçakar, B., Ekim, M., Akar, N., (2008). Is *MEFV* Gene Arg202Gln (605G>A) A Disease-Causing Mutation? *Türk J Med Sci* 38 (3): 205-208.

Pras, E., Aksentijevich, I., Gruberg, L., Balow, J.E., Prosen, L., Dean, M., Richards, R.I., Pras, M., Kastner, D.L. (1992). Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Eng J Med*, 326:1509- 513.

Rigante, D., La Torraca, I., Avallone, L., Pualiese, A.L., Gaspari, S., Stabile, A., 2006. The pharmacologic basis of treatment with colchicine children with familial Mediterranean fever: *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.10:173-178

Ritis, K., Giaglis, S., Spathari, N., et al. Non-isotopic RNase cleavage assay for mutation detection in MEFV, the gene responsible for Familial Mediterranean Fever, in a cohort of Greek patients. *Ann Rheum Dis* 2004;63:438-43.

Saatçi, Ü., Özen, S., Özdemir, S., Bakkaloğlu, A., Beşbaş, N., Topaloğlu, R., Arslan, Ş., Familial Mediterranean fever in children: report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amyloidosis. *Eur J Pediatr* 1997;156:619-623.

Samuels, J., I. Aksentijevich, et al. (1998). "Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health." *Medicine (Baltimore)* 77(4): 268-97

Siegal, S., 1945. Benign paroxymal peritonitis: *Ann Intern Med* 23:1-21

Sohar, E., J. Gafni, et al. (1967). "Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature." *Am J Med* 43(2): 227-53.

Stoffman, N., Magal, N., Shohat, T., et al. Higher than expected carrier rates for Familial Mediterranean Fever in various Jewish ethnic groups. *Eur J Hum Genet* 2000;8:307-10.

Tekin, M., Yalçınkaya, F., Çakar, N., et al. MEFV mutations in multiplex families with familial Mediterranean fever: is a particular genotype necessary for amyloidosis? *Clin Genet* 2000;57:430-434.

Touitou, I., 2001. The spectrum of familial Mediterranean (FMF) mutations: *European Journal of Human Genetics*9:473-483

Tunca, M., Akar, S., Önen, F., et al; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine* 2005;84:1-11.

www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/fiche1.php).

Yalçınkaya, F., Çakar, N., Mısırlıoğlu, M., et al. Genotype-phenotype correlation in a large group of Turkish patients with Familial Mediterranean Fever: evidence for mutation-independent amyloidosis. *Rheumatology* 2000;39:67-72.

Yalçınkaya, F., Özkaya, N., Turner, N., et al. Protracted arthritis of Familial Mediterranean fever (an unusual complication). *Br J Rheumatol* 1997;36:1228-30.

Yılmaz, E., Özen, S., Balcı, B., 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: 553-5.

Yoshida, K., Kanaoka, S., Kajimura, M., et al. A Japanese case of Familial Mediterranean Fever with family history demonstrating a mutation in MEFV. *Intern Med* 2003;42:761-4.

Zemer, D., Revach, M., Pras, M. et al. (1974). A controlled trial of colchicine in preventing attacks of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 291:932– 44.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cennet Akyol
Doğum Tarihi : 04.05.1982
Doğum Yeri : Ankara
Adres : Kafkas mah. Karakaya cad. 77/8 K.ören/ANKARA
E-mail : cennetyldz@hotmail.com

EĞİTİM:

2000-2005 Lisans
Hacettepe Üniversitesi
Fen Fakültesi
Biyoloji Bölümü

1996-1999 Lise
Ankara Gazi Lisesi