

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

ERZURUM İLİ MERKEZİ'NDE YAŞAYAN SEMPTOMPSUZ
ADÖLESANLARDA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (AAA) GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ayşen GÖK

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Celalettin KOŞAN

Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2014

İÇİNDEKİLER

ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım.....	3
2.2. Tarihçe.....	3
2.3. Epidemiyoloji.....	4
2.4. Çevresel Faktörler.....	5
2.5. Genetik Geçiş ve Genotip- Fenotip İlişkisi.....	6
2.6. Patogenez.....	8
2.7. Klinik Bulgular.....	11
2.7.1. Fenotip 1.....	12
2.7.1.1. Ateş.....	13
2.7.1.2. Abdominal Ataklar.....	13
2.7.1.3. Eklem Bulguları.....	14
2.7.1.4. Göğüs Atakları.....	15
2.7.1.5. Cilt Bulguları.....	15
2.7.1.6. Kas Bulguları.....	16
2.7.1.7. Akut Skrotal Ataklar.....	17
2.7.1.8. Vaskülit.....	17
2.7.1.9. Renal Tutulum.....	18
2.7.1.10. Nörolojik Bulgular.....	18
2.7.1.11. Pelvik Tutulum.....	18
2.7.2. Fenotip 2.....	18
2.7.3. Fenotip 3.....	19
2.7.4. AAA Benzeri Hastalık (Yeni Bir Fenotip?).....	19
2.8. Amiloidoz.....	20
2.9. Laboratuvar Bulguları.....	21

2.10. Tanı	21
2.11. Hastalık Ağırlık Skorlaması.....	25
2.12. Ayırıcı Tanı.....	26
2.13. Tedavi	27
2.14. Komplikasyonlar ve Prognoz.....	28
2.15. Moleküler Teknikler	28
2.15.1. ARMS-PCR (Ampification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction):.....	29
2.15.2. PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism).....	30
2.15.3. Striple Mutasyon Analizi	30
2.15.4. DNA Dizi Analizi	30
3. MATERYAL VE METOD	32
3.1. Moleküler Çalışmalar	33
3.1.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	33
3.1.2. DNA Dizi Analizi İçin Hazırlık Aşaması	33
3.1.3. Ekzon 10 ve Ekzon 2 için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Hazırlanması....	33
3.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Ürünlerinin Temizlenmesi	34
3.1.5. DNA Dizi Analiz Reaksiyonu ve DNA Dizi Analizlerinin Değerlendirilmesi	36
3.2. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Tanımlayıcı Bulgular	37
4.2. Hipotez Testleri.....	43
4.3. Tanısal Doğrulama Ölçütleri	50
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR.....	63
7. KAYNAKLAR	65
EKLER	76
EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)	76
EK- 2. Erzurum İli Merkezi'nde Yaşayan Adölesanlarda Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Bulgularına Yönelik Anket Formu	78

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 10.01.2013 tarih ve 2/d sayılı yazısı ile "Erzurum İli Merkezi'nde Yaşayan Semptomsuz Adölesanlarda Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Gen Polimorfizminin Araştırılması" konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Ayşen GÖK tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşülmüş ve 03.01.2013 tarih ve 1 sayılı oturumunun 3 nolu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür. Çalışma Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nca 05.03.2013 tarih ve 1 sayılı oturumunun 8 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini aktaran saygıdeğer hocam tez danışmanım Prof. Dr. Celalettin Koşan'a, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca klinik yaklaşımlarından bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, eğitimime katkıda bulunan anabilim dalı başkanı değerli hocam Prof. Dr. Cahit Karakelleoğlu'na ve kıymetli hocalarım Prof. Dr. Handan Alp, Prof. Dr. Naci Ceviz, Prof. Dr. Zerrin Orbak, Prof. Dr. Hüseyin Tan, Prof. Dr. Mustafa Büyükavcı, Doç. Dr. Haşim Olgun, Doç. Dr. Hakan Döneray, Doç. Dr. Zuhâl Keskin Yıldırım'a; verdiği destekten dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na; tezimin hazırlanma aşamasında istatistik çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Temel Tıp Bilimleri Anabilim Başkanı hocamız sayın Doç. Dr. Hamit Acemoğlu'na, moleküler çalışmalar konusunda bana yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Hasan Doğan ve Yrd. Doç. Dr. Eda Diyarbakırlı'ya; yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Elif Olcaysü ve eşi Uzm. Dr. Okan Olcaysü'ye; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum büyük bir özveriyle çalışan asistan arkadaşlarıma, değerli uzman hekimlere, klinik ve poliklinik hemşirelerimiz ve diğer sağlık personeline teşekkür ediyorum.

Bilhassa her zaman kendilerinden güç ve destek aldığım, bugünlere gelmemde özveri ve emekleri olan babam Sacit Mağat, annem Aliye Mağat, kardeşim Fethiye Erdem ve eşi A. Hamdi Erdem'e; anlayış ve desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Mehmet Gök ve bu sürecin bitmesini sabırla bekleyen biricik oğlum İbrahim Eren'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ayşen Gök

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), tekrarlayan ateş, karın, göğüs ve eklem ağrısı atakları ile seyreden otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır. AAA hastalığı, tedavisiz kaldığı takdirde, amiloidoz, böbrek yetmezliği ve ölümlerle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle zamanında ve doğru tanı konması büyük önem taşımaktadır. Ne yazık ki hastalığa tanı koyduracak spesifik bir laboratuvar bulgusu yoktur. Tanı büyük ölçüde klinik semptom ve bulgulara dayanmaktadır. Son zamanlarda AAA hastalığı ile ilgili en önemli gelişme; bu hastalığa yol açan genin ve bu gendeki mutasyonların bulunmuş olmasıdır. AAA ile ilişkili olduğu bilinen MEFV geni 16. Kromozomun kısa kolunda (16p13) lokalizedir. Hastaların yaklaşık %74'ünde rastlanan mutasyonlar sırasıyla; M694V, V726A, M680I, M694I (Ekzon 10) ve E148Q (Ekzon 2) olarak bildirilmiştir.

AAA hastalığına ilişkin genetik testler klinisyenler tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, AAA hastalığının sık görüldüğü toplumlarda sağlıklı bireylerde de yüksek oranda mutasyon bulunması bu testin tanı değerini düşürmektedir. Öte yandan, Türk Toplumunda yapılmış, sağlıklı bireylerin hangi AAA mutasyonlarını taşıdığını ve prevalansını araştıran geniş kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Genetik testin değeri, mutasyonların türüne ve prevalansına bağlı olduğuna göre, bunun bilinmesi klinisyene büyük katkı sağlayacaktır.

Amaç: Mutasyon taramaları maliyetli, emek ve zaman isteyen çalışmalardır. Kısıtlı imkanlarımıza karşın bölgemizde küçük de olsa bir grup sağlıklı bireyde bu çalışmayı gerçekleştirdik. Türk Toplumunda MEFV gen mutasyonu taşıyıcılık oranını belirlemek amacıyla böyle bir çalışmayı yaparak literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Araştırmamıza klinik olarak Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) tanısı almamış sağlıklı toplam 250 kişi dahil edildi. Çalışma grubumuzun yaş ortalaması 16,6 yaş ($\pm 0,9$) olarak bulundu. AAA hastalığı klinik olarak sıklıkla 20 yaşından önce belirti verdiği için araştırma grubu olarak lise öğrencileri seçildi. MEFV geni üzerinde bulunan Ekzon 2 ve Ekzon 10 gen bölgesi mutasyonlarının araştırılması için moleküler tekniklerden, mutasyon taramasında altın standart olarak kabul edilen hassasiyeti oldukça yüksek olan Sanger DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar: Çalışmaya alınan 250 kişiden 69'unda (%27,6) MEFV geninde mutasyon tespit edildi. Doğu Anadolu Bölgesi'nde MEFV taşıyıcılık sıklığı 1/ 3,6 olarak bulundu.

Toplam 9 farklı mutasyon saptandı. Çalışmamıza katılan sağlıklı bireylerde en sık E148Q mutasyonu tespit edildi. İkinci sıklıkta bulunan M694V mutasyonu oldu. Diğerleri sıklık sırasına göre V726A, A744S, M680I, R761H, P369S, R202Q, K695R mutasyonlarıdır.

Sağlıklı adölesanların genotip dağılımları incelendiğinde 30 kişide heterozigot genotip (%24), 4 kişide homozigot (%1,6), 4 kişide birleşik heterozigot (%1,6), 1 kişide ise kompleks genotip (%0,4) tespit edildi.

Çalışma grubumuz ve pediatrik nefroloji polikliniğinde takipli AAA hastalarının taşıdığı mutasyonlar karşılaştırıldı ve M694V, M680I, V726A mutasyonu bulunan allel sıklığı AAA hastalarında sağlıklılara göre yüksek ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Göreceli orantı (Odds Ratio) hesaplaması ile AAA hastası olanlarda sağlıklı gruba göre M694V mutant gen taşıma olasılığı 23,8 kat, M680I mutant gen taşıma olasılığı 10,9 kat, V726A mutant gen taşıma olasılığı 8,4 kat fazla bulundu. E148Q mutasyonu bulunan allel frekansı açısından bakıldığında her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0,544$).

Tartışma: Araştırmamızın sonucunda Erzurum İl Merkezi'nde yaşayan sağlıklı adölesanlarda MEFV taşıyıcılık sıklığı 1/ 3,6 olarak bulundu. Bu oran Türkler'de ve diğer etnik gruplarda daha önce yapılmış olan çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu görüldü.

Çalışmamız sonucunda sağlıklılarda en sık E148Q mutasyonu saptandı ve E148Q homozigot taşıyıcısı olan dört kişide AAA klinik bulgularının olmadığı görüldü. Bununla birlikte sağlıklı kişilerle klinik olarak AAA tanısı almış olan hastalar E148Q mutasyonu bulunan allel frekansı açısından karşılaştırıldığında iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olması E148Q mutasyonunun hastalık yapıcı mutasyondan ziyade benign polimorfizm olduğunu desteklemektedir.

Çalışmaya katılan asemptomatik bireylerin 4'ünde homozigot (%1,6), 4'ünde birleşik heterozigot (%1,6), birinde ise kompleks genotip (%0,4) tespit edilmiş olması birleşik heterozigot (compound heterozigot), homozigot, kompleks genotip mutasyon taşıyıcılarının asemptomatik olabildiğini göstermektedir. Bu genotiplere sahip olan bireyler AAA gelişebilme ihtimaline karşın yakın takibe alındılar.

Anahtar Kelimeler: Ailevi akdeniz ateşi, MEFV gen mutasyonu, çocukluk dönemi.

ABSTRACT

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive hereditary disease, which associated with recurrent fever, abdominal, chest and joint pain attacks. MEFV gene known to be associated with FMF is localized in the short arm of 16th chromosome (16p13). MEFV gene encodes a protein, which called Pyrin (Marenostrin) containing 781 amino acid. It is expressed that this protein, which is expressed in granulocytes, plays a negative regulator role in inflammatory response. Mutated Pyrin undergoes structural changes and therefore insufficient inhibition of inflammation occurs with more leukocyte migration. The most common mutations are that approximately 74% of patients have, M694V, V726A, M680I, M694I (exon 10) and E148Q (exon 2) respectively.

Aim: Mutation screenings are expensive, needs efforts of someone and time to consuming. Despite our limited facilities in our region, we conducted this study in a small group of healthy individuals. In this study we aimed to contribute to the literature with determining the rate of MEFV gene mutation carriers in the Turkish Society.

Material and Methods: In our clinical research 250 healthy individuals were included who did not diagnose FMF. The average age of the study group was calculated as 16.6 years (± 0.9). As FMF disease clinical symptoms often observe before 20 ages high school students were selected as research group. To search Exon 2 and Exon 10 gene region mutations which is located on MEFV gene, Sanger DNA sequencing method that one of the molecular techniques considered the gold standart for mutation screening with high sensitivity, was used.

Results: In 69 children out of 250 enrolled in the study MEFV gene mutations were detected. In the Eastern Anatolia Region MEFV carrier frequency was found of 27.6 %.

Nine different kinds of mutations were detected. Most frequent mutations were E148Q and M694V in healthy individuals, respectively. Other mutations were in order to frequency, V726A, A744S, M680I, R761H, P369S, R202Q and K695R mutations.

When examined the genotype type in healthy adolescents, heterozygous homozygous, compound heterozygous and complex genotypes were identified in 24%, (30/250), 1.6% (4/250), 1.6% (4/250) and 0.4% (2/250) respectively.

The mutations in our study group and patients with FMF who have followed-up in pediatric nephrology department were compared. In patients with FMF M694V,

M680I and V726A mutant alleles were in high frequency compared to healthy children and difference between groups was significant ($p < 0.001$).

Compared to healthy group, in patients with FMF carrying M694V, M680I and V726A mutant genes were found, 23.8, 10.9 and 8.4 times higher respectively. In terms of allele frequency with E148Q mutation, difference between the groups was not statistically significant ($p = 0.544$).

Discussion: The results of our research in the Eastern Anatolia Region has demonstrated that carrying mutant MEFV gene was found to be 27.6%. When this result was compared with the previous studies carrying mutant MEFV gene was similar between Turkish children and other ethnic groups. Our study determined the most frequent E148Q in healthy people and in four people who had E148Q homozygous mutation did not have any FMF clinical findings. However, when patients who have diagnosed FMF compared with healthy people in terms of allele frequency with mutations, the fact that the statistical difference between the groups was not significant. This supports that E148Q mutation is a benign polymorphism rather than disease-causing mutation.

In present study as we have determined, homozygous mutation in 4 (1.6%) children, compound heterozygous in 4 (1.6%) children, complex genotype in 1 (0.4%) child, this results may show that compound heterozygous, homozygous, complex genotype mutation carriers can be asymptomatic. Individuals who have this genotype have to follow closely in case of the possibility of amyloidosis evolving.

Key words: Childhood, familial mediterranean fever, MEFV gene mutations.

KISALTMALAR VE SİMGELER

µl	: Mikrolitre
AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi
AFR	: Akut faz reaktanı
ARE	: Aril esteraz
ARMS- PCR	: Ampification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction
ASC	: Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (Apoptosisle ilişkili CARD içeren speck benzeri protein).
BAP	: Bilimsel Araştırma Projesi
C5a	: Kompleman 5a
CINCA	: Kronik infantil nörolojik kütanöz artropati sendromu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
FMF	: Familial Mediterranean Fever (Ailevi Akdeniz Ateşi)
HIDS	: Hiperimmünoglobulin D sendromu
HLA	: Human lökosit antijen
IL	: İnterlökin
LPS	: Lipopolisakarit
MEFV	: Mediterranean Fever Gene (AAA geni)
mg/dl	: Miligram/ desilitre
NF- κB	: Nükleer Faktör kappa B
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFAPA	: Periyodik ateş, aftöz stomatit, farenjit, adenopati sendromu
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler
PON 1	: Paraoksonase 1
PYD	: Pirin domeni (bölgesi)
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SAA	: Serum Amiloid A proteini
sICAM-1	: Solübil intersellüler adezyon molekülü- 1
sn	: Saniye
SPSS	: Statistical Package for Social Science

TNF : Tümör nekrozis faktör
TRAPS : TNF reseptör ilişkili periyodik sendrom

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. AAA hastalığında sık ve nadir görülen bulgular	13
Tablo 2. Tel Hashomer AAA tanı kriterleri	22
Tablo 3. Livneh ve arkadaşlarının AAA tanı kriterleri	23
Tablo 4. Yalçinkaya ve arkadaşlarının önerdiği AAA tanı kriterleri.....	24
Tablo 5. AAA için belirlenen hastalık ağırlık skorlaması.....	25
Tablo 6. AAA ataklarının ayırıcı tanısına giren hastalıklar	26
Tablo 7. Çalışmaya alınan kişilerin memleketlerine göre dağılımı	37
Tablo 8. Katılımcılarda mevcut olan yakınmaların dağılımı	38
Tablo 9. Katılımcılardan MEFV mutasyonu tespit edilenlerin sayısı ve oranları.....	39
Tablo 10. Çalışmamıza katılanlarda tespit edilen mutant allel frekansı	39
Tablo 11. Çalışmamıza katılan sağlıklı adölesanlarda tespit edilen genotip dağılımları	40
Tablo 13. Cinsiyete göre MEFV mutasyon varlığı	43
Tablo 14. Yaygın ve şiddetli kas ağrısı yakınması ve MEFV gen mutasyonu varlığı... 43	
Tablo 15. Ateşin de eşlik ettiği karın ağrısı şikayetleri ve MEFV mutasyon varlığı..... 44	
Tablo 16. Katılımcıların ailesinde AAA hastalığı bulunması ve MEFV mutasyon iştirikisi.....	44
Tablo 19. AAA hastaları ve çalışmamıza katılan sağlıklıların genotip dağılımlarına göre karşılaştırılması	47
Tablo 20. MEFV mutasyonlarının AAA hastaları ve sağlıklı kişilerdeki dağılımı	48
Tablo 21. Kullanılan genetik tarama testinin tanısal yeterliliğinin değerlendirilmesi	50
Tablo 22. Türk Toplumunda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon frekansları	54
Tablo 23. Yahudiler ve mevcut çalışmamıza katılan sağlıklılarda tespit edilen MEFV mutasyon dağılımı ve genel taşıyıcılık oranları	57
Tablo 24. Araplar ve bizim çalışmamıza katılan sağlıklılarda saptanan MEFV allel frekansları ve genel taşıyıcılık oranları.....	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ailevi Akdeniz Ateşi ile ilgili kurucu mutasyonların tahmini göç yolları	5
Şekil 2. AAA'nin otozomal resesif kalıtım patterni	6
Şekil 3. MEFV geni lokalizasyonu	7
Şekil 4. MEFV mutasyon spektrumu	7
Şekil 5. Pirin (marenostri) proteini	9
Şekil 6. Pirin proteini ve ASC arasındaki ilişkinin şematik görünümü.....	10
Şekil 7. AAA'li bir hastada sol ayak sırtında erizipel benzeri eritem	16
Şekil 8. Erzurum İli'nde yaşayan sağlıklı adölesanlarda saptanan MEFV genotip dağılımı	41
Şekil 9. Çalışmamıza katılan sağlıklı grup ve AAA hastalarının genotip dağılımlarının karşılaştırılması	47
Şekil 10. Çalışmamıza katılan sağlıklılarda ve AAA tanılı hastalarda saptanan mutasyonların karşılaştırılması	49

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) (Familial Mediterranean fever; FMF), tekrarlayan ateş epizotları ve seröz zarların inflamasyonu ile karakterize otoinflamatuvar bir hastalıktır (1). Herediter periyodik ateş sendromlarından en yaygın olanıdır (2). Akdeniz çevresinde yaşayan toplumlarda sık görülür. Yahudiler, Ermeniler ve Araplar'ın yanı sıra Türkler hastalıktan en çok etkilenen etnik gruplardır (3, 4). Otozomal resesif kalıtımla geçen AAA'ne neden olan gen (Familial Mediterranean Fever Gene; MEFV) 1997 yılında klonlanmıştır (5, 6). 16. kromozomun kısa kolunda (16p13,3) olduğu belirlenmiş olan MEFV geni 781 amino asid içeren Pirin (Pyrin= Marenostin) adlı bir proteini kodlar. Granülositlerde eksprese olan bu proteinin, inflamatuvar cevapta negatif regülatör rol oynadığı belirtilmektedir. Mutasyona uğramış Pirin yapısal değişikliğe uğrar ve inhibisyon yeterli olmadığı için fazla lökosit migrasyonu ile inflamasyon oluşur (7, 8). Hastaların yaklaşık %74'ünde rastlanan mutasyonlar sırasıyla; M694V, V726A, M680I, M694I (Ekzon 10) ve E148Q (Ekzon 2) olarak bildirilmiştir (9- 11). MEFV geninin belirlenmesi AAA'nin tanısı için moleküler çalışmalara olanak sağlamıştır. Moleküler testler ve AAA hastası olduğu daha önceden bilinen hastaların risk taşıyan kardeşlerinin belirlenmesi ve kolşisin tedavisine zamanında başlanması bakımından da önem taşımaktadır. Bununla beraber AAA'in klasik klinik tablosu öylesine özeldir ki, çoğu vakalarda tanı için laboratuvar ve genetik desteğe ihtiyaç yoktur. Hastalık başlıca, karın, göğüs ve eklemleri tutan ağrılı, ateşli nöbetlerle karakterizedir. Atak sırasında hastalar soluk ve ağır hasta görünümündedirler (12). Çoğunda, nöbet esnasında veya nöbetten çok kısa bir süre sonra akut faz reaktanları belirgin şekilde artar. Akut epizotlar arasında hastalar genellikle asemptomatiktir ve rutin laboratuvar testleri esas itibariyle normaldir. Etkilenen bölgeye bakılmaksızın atakların genel özellikleri çok benzerdir; semptomların hızla oluşması, kısa sürmesi (6 saat- 4 gün), yüksek ateş (>38°C), şiddetli ağrı, spontan remisyon ve tam düzelme olması karakteristiktir (13). Genel olarak atakları başlatan spesifik bir sebep bulunamazken, bazı hastalarda menstruasyon, emosyonel stres, yoğun fiziksel aktivite tetikleyici faktörlerdir (14). Amiloidoz ile birlikte olan böbrek yetmezliği çok önemli bir komplikasyondur ve belirgin ataklar olmadan da gelişebilir (5). AAA hastalığının ülkemizde görülme sıklığı 1/ 1000 olarak bilinmektedir (15). Taşıyıcılık oranı ise

değişik araştırmalarda %15-34 olarak rapor edilmiştir. Bir başka deyişle ülkemizde her 5 kişiden birisi taşıyıcı konumundadır (16).

MEFV geninin belirlenmesi AAA hastalığı açısından yeni bir dönemin başlangıcı olmuştur. Ancak bu durum beraberinde başka soruları gündeme getirmiştir. Mutasyon tespit edilen bazı taşıyıcılarda klinik olarak hastalık görülmezken, bilinen bir mutasyon taşımayan bazı bireylerde klinik hastalık tespit edilmektedir. Mutasyon taşıyıcılarının klinik bakımdan önemi, toplumda sağlıklı bireylerde mutasyon sıklığına ve hangi mutasyonları taşıdıklarına bağlıdır. Ülkemizde her ne kadar taşıyıcılık oranı 1/5 olarak tahmin edilmiş ise de geniş kapsamlı gerçek bir mutasyon taraması yapılmamıştır. Mutasyon taramaları maliyetli, emek ve zaman isteyen çalışmalardır. Kısıtlı imkanlarımıza karşın bölgemizde küçük de olsa bir grup sağlıklı bireyde bu çalışmayı planladık.

Çalışmamızda klinik olarak Ailevi Akdeniz Ateşi tanısı almamış sağlıklı toplam 250 çocuktan DNA örnekleri alınması ve MEFV Geni Ekson 2 ve Ekson 10 Gen Bölgesi mutasyonlarının araştırılması ile bölgemizdeki MEFV gen mutasyonu taşıyıcılık oranının belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, OMIM ID: 249100) Klinik olarak 3 fenotipte tanımlanabilir. AAA tip I en ciddi komplikasyonu amiloidoz olan tekrarlayan ve kısa süreli ateş, peritonit, bazen de plörezi, perikardit, artrit, erizipel benzeri deri döküntüsünün de eşlik ettiği inflamasyon ve serozit atakları; AAA tip II asemptomatik bir bireyde hastalığın ilk klinik belirtisi olarak amiloidoz ile karakterizedir (17, 18). Tip III'de AAA ve AA amiloidoz belirti ve semptomları olmaksızın sessiz homozigot veya birleşik heterozigot (compaund heterozigot) MEFV mutasyonları mevcuttur (19).

2.2. Tarihçe

İlk olarak 1908 yılında tekrarlayan ateş, karın ağrısı, lökositöz bulguları olan 16 yaşındaki Yahudi kız hastada Janeway ve Mosenthal tarafından "Değişik Bir Paroksizmal Hastalık" olarak tanımlanmıştır (20). 1945 yılında Siegel tarafından beş olgu "Benign Paroksizmal Peritonit" olarak adlandırılmıştır (21). Türkiye'de ilk olgu 1946 yılında Abrevaya Marmaralı tarafından erişkin bir hastada "Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu" olarak rapor edilmiştir (22). 1948 yılında Reiman "Periyodik hastalık" tanımlamasını kullanmıştır (23). 1951 yılında ilk kez Mamou ve Cattan hastalığın ailevi olduğuna dikkati çekmişler ve 1956 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir (24). Heller ve Sohar 1958 yılında ilk kez "Ailevi Akdeniz Ateşi" tanımını kullanmışlar (25). 1972 yılında kolşisinin hastalık ataklarını ve amiloidozu önlediği gösterilmiştir (26). AAA'ya yol açan gen ilk kez 1997 yılında iki ayrı grup tarafından klonlanmıştır. Uluslararası AAA Konsorsiyumu ve Fransız AAA Konsorsiyumu 16. kromozomun kısa kolu 16p13.3'de bir proteini kodlayan genin AAA hastalığı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (5, 6). AAA gelişiminden sorumlu tutulan bu gen **ME**diterranean **Fe**Ver (MEFV) geni olarak adlandırılmaktadır ve ürünü olan proteine Uluslararası AAA Konsorsiyumu, ateş

(pyrexia) patogenezindeki rolü nedeniyle ‘pyrin’, Fransız Konsorsiyumu ise ‘marenostrin’(Mare Nostrum, Akdeniz için “Bizim Deniz”) adını vermişlerdir (27, 28).

2.3. Epidemiyoloji

AAA çoğunlukla Akdeniz Bölgesi’nde yaşayan toplulukları; özellikle Kuzey Afrika Yahudileri’ni (Askenazi olmayan), Ermenileri, Türkleri ve Arapları etkiler (29). Fransa, Almanya, İtalya ve İspanya gibi Avrupa Ülkeleri’nin yanısıra ABD ve Avustralya’dan AAA hastalarının rapor edilmiş olmasına rağmen dünyanın geri kalanında oldukça nadir bir hastalıktır. Çeşitli topluluklar arasında AAA’nin gerçek görülme sıklığı mevcut değildir; çünkü resmi epidemiyolojik çalışmalar yapılmamıştır. Bununla birlikte farklı çalışmalar ve kaynaklardan bilgilerin toplanmasıyla hastalığın yaygınlığı ile ilgili kabaca tahminde bulunulabilir. Türkiye, dünyada AAA hastalarının muhtemelen en fazla sayıda olduğu ülkelerden biridir. Çünkü AAA prevalansı yaklaşık olarak 1/400 ile 1/ 1000 arası ve nüfus 70 milyon olduğuna göre, ülkemizde 100 000’den fazla hasta olduğu tahmin edilmektedir (15). Ülkemizde daha çok Akdeniz çevresinde yaşayanlardan ziyade Karadeniz’in iç kısımları (Kastamonu, Sinop, Ordu, Samsun, Gümüşhane), İç Anadolu (Sivas, Tokat, Ankara), Doğu Anadolu (Ağrı, Kars, Erzurum) ve Güneydoğu Anadolu’dan köken alan kimselerde görülmektedir (28). İsrail’de prevalans 1/1000 den daha az ve nüfusu yaklaşık 7 milyon olduğu için yaklaşık olarak 10 000 hastanın olduğu tahmin edilmektedir (30). AAA’nın yaygın olduğu diğer ülke Ermenistan’dır. Prevalansın 1/ 500 ve 3 milyon nüfus ile toplam hasta sayısının 6000 olduğu tahmin ediliyor (31). Ürdün, Suriye ve Lübnan gibi Ortadoğu’daki diğer ülkelerde de birçok AAA hastaları vardır; ama bunların kesin sayıları bilinmemektedir. Bunlara ek olarak Kuzey Afrika Ülkeleri, Yunanistan, Girit, Fransa, Almanya, İtalya ve ABD’de önemli sayıda; son yıllarda Japonya’dan da 100 vaka bildirilmiştir (15). Taşıyıcılık oranları ise Türklerde 1/5; Kuzey Afrika Yahudileri’nde 1/ 4,5; Doğu Avrupa kökenli Yahudiler’de (Askenazi Yahudileri) 1/ 4,7; Ermeniler’de 1/ 5; ve Araplar’da ise 1/ 4,3- 8,7 olarak bildirilmiştir (31-34).

Yapılan çalışmalarda araştırmacılar belli etnik gruplarla ilişkili en sık gözlenen mutasyonları analiz ettiler. Ortadoğu nüfusundaki mutasyonların çoğundan sorumlu beş ortak mutasyon vardı: p.M694V, p.M694I, p.V726A, p.E148Q ve p.M680I. Bu

mutasyonlardan üçü (E148Q, V726A, M694V) çok eski ve ilk kez Mezopotamya'da 2500 yıl önce görüldü. 8. Yüzyılda İspanya ve Kuzey Afrika'ya göç vardı; AAA (M694V ve E148Q) denizciler tarafından veya karadan Akdeniz'e geçti. Avrupa'ya seyahat de (V726A) deniz ya da karayoluyla oluştu. Türkiye ve Ermenistan halkın içinde AAA hastalığının oluştuğu doğrudan toprak bağlantılı ülkelerdir (Şekil 1). Japon Toplumunda da hastalık defalarca gözlenmiş. Ben-Chetrit E ve Toitou I, Behçet Hastalığı ile benzer bir şekilde İpek yolu ile Türkiye'den Japonya'ya seyahatle mutasyon olasılığını düşündüler. AAA günümüzde modern ulaşım araçları ile Yeni Dünya'ya da göç etti. Ermenistan, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'dan giden Kuzey Amerika toplulukları Kaliforniya ve Doğu Kıyısı'nda bulunur. Güney Amerika'da yaşayan AAA'li ailelerin de aslen Orta Doğu kökenli olduğuna inanılır (15, 18).



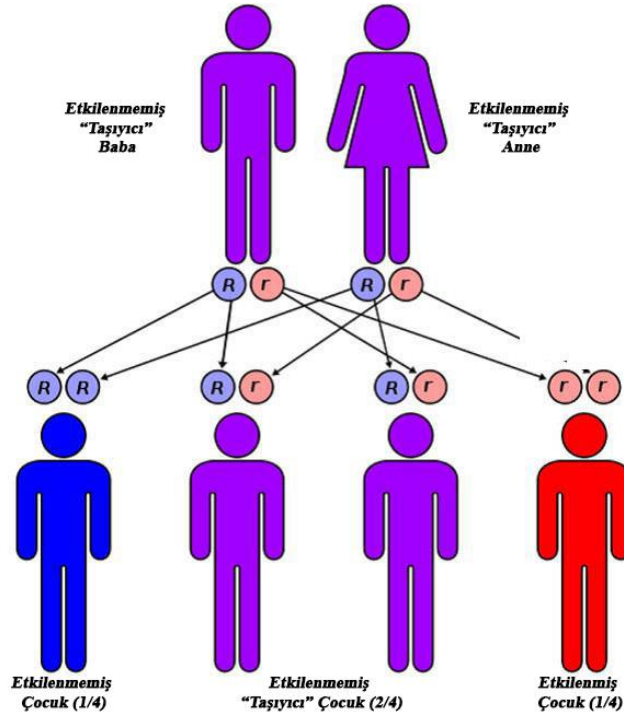
Şekil 1. Alevi Akdeniz Ateşi ile ilgili kurucu mutasyonların tahmini göç yolları

2.4. Çevresel Faktörler

Çevresel faktörlerin etkisi için ilk kanıt, 1970'lerde tanımlanmıştır. ABD'de yaşayan Ermeni AAA'li hastalarda Ermenistan'da yaşayanlara göre daha az sıklıkla amiloidoz geliştiği belirtilmiştir (19). Çok sonra Touitou ve ark. (35) ikamet edilen ülkenin MEFV genotipine kıyasla hastalığın şiddetini daha önemli ölçüde etkilediğini doğruladı. Benzer olarak Özen ve ark. (36) Türkiye'de yaşayan FMF'li Türk çocuklarında Almanya'da yaşayanlara göre daha ağır bir hastalık gözlemledi.

2.5. Genetik Geçiş ve Genotip- Fenotip İlişkisi

AAA hastalığı otozomal resesif olarak geçer (Şekil 2) (37). Hasta bireyin anne ve babası zorunlu taşıyıcıdır. AAA taşıyıcılığı ve akraba evliliği oranı yüksek olan toplumlarda çocuklar taşıyıcı veya hasta olarak dünyaya gelmektedir. Eğer anne ve baba mutasyonu heterozigot olarak taşıyorsa bir sonraki nesilde hasta bireyin dünyaya gelme ihtimali %25, taşıyıcılık oranı %50 iken sağlıklı birey olma olasılığı %25'dir.



Şekil 2. AAA'nin otozomal resesif kalıtım patterni

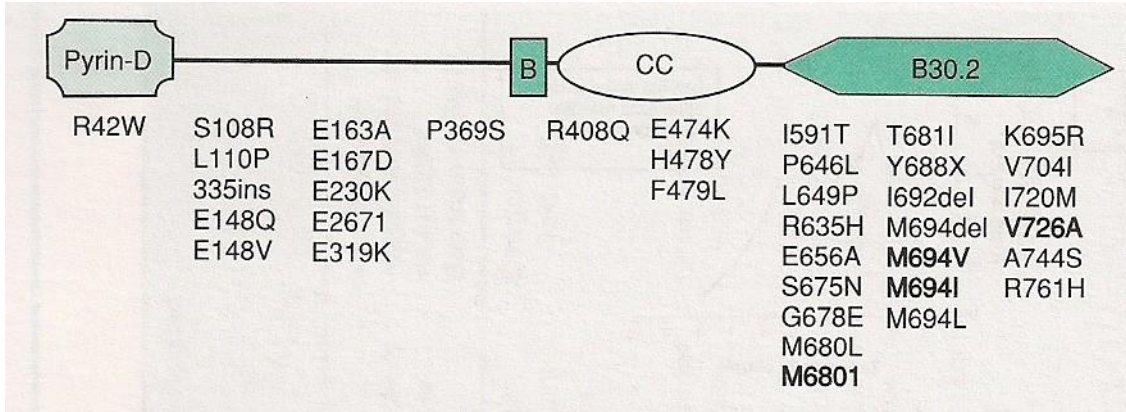
AAA ile ilişkili olduğu bilinen MEFV (**ME**diterranean **Fe**Ver) geni 16. Kromozomun kısa kolunda (16p13) lokalizedir (Şekil 3) (37). Bu gen 10 eksondan oluşmakta ve 10 kb (kilobaz) büyüklüğündedir. 3,7 kb'lık bir bölgede kodlanan proteinin deri, periton ve sinovyumdaki matür nötrofil ve fibroblastlarda eksprese olduğu ve hücre iskeleti düzeyinde bir inflamatuvar düzenleyici olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Bu protein 781 aminoasitten oluşmakta olup; Fransız AAA Konsorsiyumu tarafından marenostin, Uluslararası AAA Konsorsiyumu tarafından pirin olarak tanımlanmıştır (5, 6, 18). Mutasyona uğramış pirin yapısal değişikliğe uğrar ve inhibisyon yeterli olmadığı için fazla lökosit migrasyonu ile inflamasyon oluşur (7).

Pirin proteinindeki 694. aminoasitte methionin yerine valin gelmesiyle M694V ve methionin yerine izolösin geçmesiyle M694I; 680. Aminoasitte methionin yerine izolösin geçmesi sonucu M680I, 726. Aminoasitte valin yerine alaninin geçmesiyle de V726A mutasyonları oluşur. 148. aminoasitte glutamik asit yerine glutaminin geçmesiyle oluşan E148Q mutasyonu ise ekzon 2 de yer alır (28, 32). En sık rastlanan mutasyon olan M694V, vakaların %20- 67'sinde gösterilmiş olup, homozigot olması durumunda hastalık ağırlığında ve amiloidoz insidansında artışa neden olabileceği belirtilmektedir (40). V726A mutasyonu hastaların %7- 35'inde bulunur ve düşük amiloidoz insidansı ve hafif seyir ile ilişkilidir. Tanımlandığı bazı etnik gruplarda amiloidoz sıklığının daha düşük olduğu bulunup, bu mutasyonun amiloidoza karşı koruyucu olabileceği öne sürüldü. Mutasyonların amiloidoz oluşumunu açıklamada tek başına yeterli olmadığı, M694V homozigotluğu olsun olmasın tüm AAA hastalarının risk altında olduğu ve tedavi gerektirdiği sonucuna varılmıştır (41, 42). E148Q mutasyonu en az penetran fenotip olup, bu mutasyonu taşıyanlarda hafif hastalık formu görülür. Bu bulgular, farklı mutasyonların fenotipik farklılığa neden olduğunu göstermektedir (40, 43, 44).

2.6. Patogenez

AAA'nin patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Genetik olarak bu hastalığa yatkın olan kişilere çeşitli çevresel faktörlerin de etkisi olduğu düşünülmektedir.

AAA hastalığı ile ilişkili bulunan MEFV geninde kodlanan pirin (marenostrinin) proteini, dört farklı fonksiyonel domain (bölge) içermektedir. N-terminal ucunda PYD/ pirin domaini, C-terminalinde B30.2 domaini, PYD ve B30.2 domainleri arasında sıkışmış B-box ve CC (coiled- coil/ sarmallanmış sarmal) segmentleridir. En sık mutasyonlar B30.2 bölgesini etkilemektedir (Şekil 5) (45).

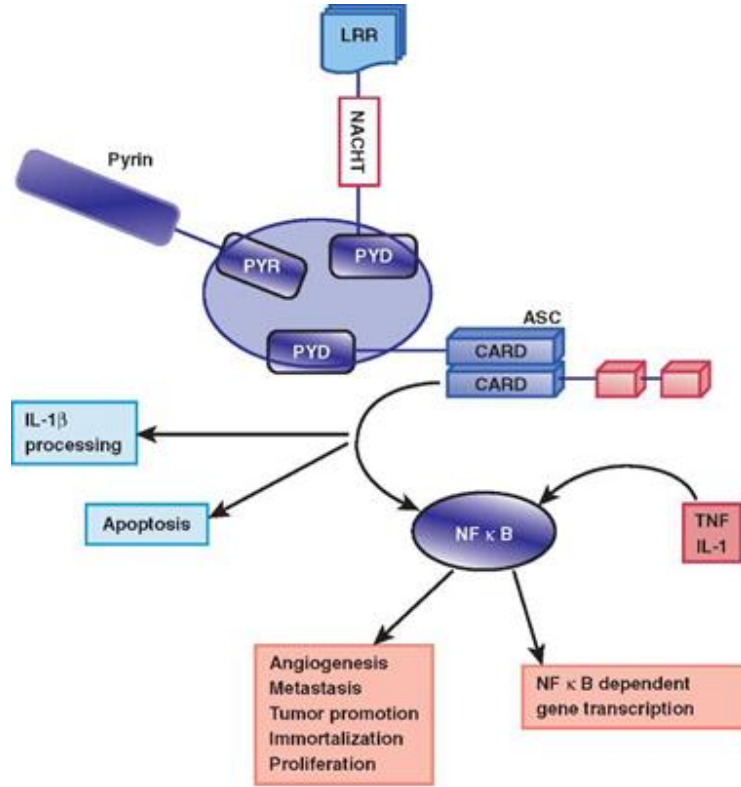


Şekil 5. Pirin (marenostin) proteini

N-terminal ucunda yer alan 92 aminoasitlik pirin domain (PYD) olarak bilinen kısım özellikle ilgi çekicidir. Pirin-D inflamasyon cevabında ve apoptozun regülasyonunda rol oynayan proteinlerin etkileşimini kolaylaştırmaktadır. Pirin bir antiinflamatuvar faktör olarak hareket eder. Bunu da pro IL- 1 β 'nin aktif forma dönüşmesini inhibe ederek gerçekleştirir. Pirin molekülünün C- terminal alanı (B30.2), IL- 1 β üretiminin inhibisyonuna yol açan kaspaz- 1 ile etkileşime girer. Kaspaz- 1, ASC (apoptozis spect complex) bağlanmasını sağlayan pirin proteininin AAA olan hastalarda mutasyon nedeniyle işlevsel olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Bu durum kontrolsüz inflamasyonun sorumlusu olan IL- 1 β düzeyinin artması ile sonuçlanır (Şekil-6) (46). IL- 1 β ise ateş ve inflamasyonda rol oynar.

Aktif inflamatuvar hücreler dokuya geçer. Bu hücreler tarafından üretilen serbest oksijen radikallerinin AAA patofizyolojisinde önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir. AAA olan hastalarda ataklar sırasında serum interferon- γ , TNF- α , IL- 1 β , IL- 6 ve IL- 8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artmıştır. Sitokinlerin uyarılması ile aktive edilen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Artan ROS bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B aktivasyonuna yol açar, ROS ve sitokinler arasında bir kısır döngü ortaya çıkar (47, 48). NF- κ B İnflamasyon ve immünitenin çeşitli yönlerini kontrol eden çok sayıda genin regülasyonunda rol oynayan dimerik bir transkripsiyon faktörüdür. Bu transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ve translokasyon, çeşitli sitokinler (IL- 1 ve TNF- α), mikrobiyal ajanlar (LPS; lipopolisakarit- endotoksin), oksidatif ortam (ROS) ve radyasyon gibi faktörlerle moleküler düzeyde düzenlenmektedir (37). Oksidatif stresin

ortaya çıkması ve ROS düzeyinin artmasıyla paraoxonase- 1 (PON- 1) ve aril esteraz enzimleri gibi endojen anti- oksidan seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (49).



Şekil 6. Pirin proteini ve ASC arasındaki ilişkinin şematik görünümü

Bir başka olasılık, AAA olan hastaların periton ve sinovyal sıvılarında C5a inhibitörü (inaktive edici enzim) eksikliği bulunmuş olmasına dayanmaktadır. C5a, kompleman kaynaklı önemli bir inflamatuvar mediyatördür ve nötrofiller için güçlü bir kemotaktik ajandır. Normal şartlarda C5a inhibitör proteini sinoviyal sıvı ve periton boşluğundaki fibroblastlarca üretilir ve fizyolojik olarak buraya sızmış olan az miktardaki C5a'yı nötralize ederek, uygunsuz bir inflamasyonu engeller. Bu hipoteze göre, AAA'li hastalarda pirin/ marenostin disfonksiyonuna bağlı olarak, C5a inhibitör yetersizliği sonucu fazla miktarda C5a birikmekte ve akut ataklar ortaya çıkmaktadır. Bu teori daha az popüler olmakla birlikte, AAA'nin tekrarlayıcı karakterini açıklamaktadır (50- 52).

AAA ataklarının stres ile ortaya çıkmasına dayanan hipotezler de mevcuttur. Hayashi ve arkadaşları, AAA hastalarında noradrenalin infüzyonu ile akut atak

başladığını ve vücutta noradrenalin depolarını ve nörotransmitterlerin salıverilmesini azaltan rezepinin ise bu atakları baskıladığını tespit etmişler. Sonuç olarak katekolamin depolanma ve salıverilme mekanizmasında bir bozukluk olabileceğini ileri sürmüşlerdir (53).

Barakat ve arkadaşları, katekolamin metabolizmasındaki muhtemel bir bozukluğu araştırmak amacıyla semptomimetik etkili metaraminol infüzyonunu kullanmışlardır. Metaraminol infüzyonuna bağlı endojen katekolamin deşarjı ile meydana gelen AAA benzeri tablonun kolşisin ile engellenebildiğini bildirmişlerdir (54).

2.7. Klinik Bulgular

AAA ateş ile birlikte steril peritonit (karın ağrısı), artrit veya artralji, plörit (göğüs ağrısı) gibi bulguları içeren ve birkaç saat- 4 gün süren tipik akut ataklarla karakterize bir hastalıktır. Perikart, testis (tunica vaginalis) (akut skrotum) gibi diğer seröz dokular daha nadir etkilenir. Erizipel benzeri döküntü, myalji, splenomegali, nörolojik tutulum, Henoch- Schönlein purpura ve hipotiroidi daha az yaygın olan diğer bulgulardır. Bazı hastalarda uzun süren (6 hafta kadar) alt ve üst ekstremitelerde myalji ile birlikte ateş epizotları ile karşılaşılabilir. Egzersiz, emosyonel stres, enfeksiyon, menstruasyon, operasyon akut atakları tetikleyebilmektedir (46).

Klinik bulgular olguların %90'ında 20 yaşından, %65'nde 5 yaşından önce başlar. Başlangıç yaşı daha erken (6 ay gibi) de olabilir (28, 46).

Çocuklarda hastalık, her iki cinste eşit olmasına rağmen; bazı çalışmalarda Erkek: Kadın oranı erkekler lehine olup 1,2:1 olarak rapor edilmiştir. Bunun nedeninin hastalık fenotipinin kadınlardaki eksik penetransı ya da MEFV geninin iki allelinde de mutasyon taşıyan kız zigotlardaki artmış embriyonik ölümden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (19, 55).

Hastaların çoğunda, nöbet esnasında veya nöbetten çok kısa bir süre sonra akut faz reaktanları belirgin şekilde artar. Akut epizotlar arasında hastalar genellikle

asemptomatiktir ve rutin laboratuvar testleri esas itibariyle normaldir (12). Ataklar düzensiz aralıklarla ortaya çıkar. Vakaların çoğunda atak sıklığı, 2 haftada 2 epizotla, 2 ayda bir epizot arasında değişir (56).

Klinik olarak AAA 3 fenotipe ayrılabilir:

Tip 1, genelde ateş, bazen de peritonit, sinovit, plörit, perikardit, orşit ve menenjitin de eşlik ettiği tekrarlayan kısa süreli inflamasyon ve serozit atakları ile seyreden ve en ciddi komplikasyonu amiloidoz olan vakaları içerir.

Tip 2, asemptomatik bir bireyde hastalığın ilk klinik belirtisi olarak amiloidoz ile karakterizedir.

Tip 3, AAA hastalığı ya da AA amiloidozis semptom ve işaretleri olmadan iki MEFV mutasyonunun tespit edildiği sessiz homozigot ya da birleşik heterozigot durumu olarak tanımlanabilir.

Son yıllarda heterozigot mutasyon taşıyıcılarının AAA'nin hafif formu olan, AAA benzeri hastalık (FMF- like disease) adı konulan bir hastalıktan etkilenmiş olabilecekleri gözlenmiştir. Diğer modifiye genlerin etkileri veya çevresel etmenler AAA'nin değişken penetrans ve fenotipik farklılığına yol açabilir. Kompleks klinik ve genetik vakaların incelenmesi bu hastalığın mekanizmasının kavranması için ek detaylar sağlayacaktır (19).

2.7.1. Fenotip 1

Genellikle, tipik bir atak, 12 ve 72 saat arasında sürer ve başlangıcından itibaren 12 saat içinde zirveye yükselir. Ataklar arasındaki aralık birkaç hafta, ay veya yıl kadar değişkendir; M694V, M680I ve M694I homozigot hastalarda daha sık ataklar görülmektedir. Bu nöbetler esnasında sık ve nadir görülen bulgular tablo-1'de gösterilmiştir (12, 15).

Tablo 1. AAA hastalığında sık ve nadir görülen bulgular

<u>Sık Görülen Bulgular</u>	<u>Nadir Görülen Bulgular</u>
Ateş	Basit myalji
Abdominal bulgular	Uzamış febril myalji
Artralji ve artrit	Seronegatif spondiloartropati
Plörezi	Vaskülit, glomerülonefrit
Cilt bulguları	Akut skrotal atak
	Perikardit

2.7.1.1. Ateş

Hastalığın en tipik bulgularından biridir. Nadiren hastada tek semptom olarak karşımıza çıkabilir (50, 57). Çoğu zaman diğer klinik bulgulara eşlik eder. Çok nadir olmakla birlikte bazı vakalarda ateş olmayabilir (13, 58). Tekrarlayan ateş, 38- 40°C sıcaklık ile karakterizedir. Antibiyotiklerin herhangi bir etkisi yok iken, ateş kısmen, ateş düşürücü ya da steroidlere yanıt verebilir. Ateş sırasında yapılan laboratuvar tetkiklerinde tipik olarak eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP), SAA ve fibrinojen gibi AFR düzeylerinin artması ile birlikte lökositozun olduğu (nötrofili) görülür (19). Kolşisin alan hastalarda nöbetlerin ateş boyutu yaşanmayabilir (57).

2.7.1.2. Abdominal Ataklar

Karın ağrısı, etkilenen bireylerin yaklaşık %90'ında görülür, steril peritonit nedeniyledir ve genellikle tüm karını kapsar. Fizik muayenede rebound, hassasiyet, karın şişliği ve peristaltik seslerin kaybı, karın kaslarının tahta gibi katılığı ortaya çıkar. İshal çocuklarda daha sık iken bazı kişilerde tüm atak boyunca süren kabızlık vardır (29). Karın ağrısı ateşten önce görülür ve ateş normale döndükten sonra 1-2 gün süreyle devam eder (57). Radyografik bulgu olarak ince bağırsakta çok sayıda küçük hava-sıvı seviyeleri ortaya çıktığından 'akut karın' tanısı genellikle laparotomi ile sonuçlanır. Ailede veya hastada apendektomi, laparotomi hikayesi olabilir. Aksi halde, belirti ve bulgular 24- 48 saat içinde sekel bırakmadan düzelir (19).

Hastaların bir kısmında normal ateş, akut faz reaktanlarında değişiklik olmaması veya minimal derecede olması, nöbetin daha kısa veya daha uzun sürmesi, tam bir peritonitin olmaması ve nöbetlerin bir abdominal bölgeye lokalizasyonu ile karakterize olan inkomplet abdominal ataklar şeklinde ortaya çıkabilir (59).

AAA hastalarında; kolşisin etkisi, gastrointestinal amiloidoz, inflamatuvar barsak hastalıkları, vaskülit gibi abdominal ağrının diğer nedenleri de görülebilir (60). Vakaların %30'unda splenomegali saptanmaktadır. Splenomegali inflamasyona sekonder ortaya çıkıp nadiren amiloid birikimine bağlı olabilir (46, 61).

2.7.1.3. Eklem Bulguları

Eklem tutulumu vakaların yaklaşık %75'inde mevcuttur. Sıklıkla alt ekstremitelerde kalça, diz, ayak bileği gibi büyük eklemlerde lokalize, gezici olmayan, eklemleri asimetrik olarak tutan mono veya oligoartiküler artrit tarzında ortaya çıkar. Hemen hemen her eklem tutulabilir. Omuz, temporomandibular veya sternoklaviküler eklem de etkilenebilir. Abdominal ataklar için belirtilen zaman diliminde akut artrit atakları da hafifleme eğilimindedir; yerel kızarıklık, şişlik ve hassasiyet sekel bırakmadan 48-72 saat içinde sonlanır (62). Artriti olan hastalarda steril, nötrofillerin yoğun olduğu sinovyal sıvı artışı vardır ancak eklemden şişme veya ısı artışı olmayabilir. Akut atak sırasında direk grafilerde kemik yapılarında herhangi bir değişiklik bulunmaz (63). Akut eklem ataklarının rezolüsyonu 2-3 günde olabileceği gibi, genellikle bir haftayı bazen de bir ayı bulur. Ataklar, küçük travmalar, uzun yürüyüş gibi olaylarla provake edilebilir (58,4). Artriti olan AAA hastalarında, hastalığın daha erken yaşta başladığı, erizipel benzeri eritem ve myaljinin daha sık görüldüğü ve vaskülitlerle birlikteliğin daha sık olduğu saptanmıştır (62).

AAA'nin sık olmayan bulgularından biri uzamış artrittir. Hastaların yaklaşık olarak %5'inde görülür, eklem hasarı ve kalıcı deformite ile sonuçlanabilir (65, 66). Genellikle kalça ve diz eklemleri tutulur, fakat ayak bileği, temporomandibüler, sternoklaviküler gibi eklemlerde de uzamış bir seyir görülebilir. Bir kaç hafta veya ay, bazen de bir yıl veya daha uzun süre sonra ağrı kendiliğinden geçer. Tam iyileşmenin yanı sıra, kas atrofisi, osteoporoz, aseptik nekrozla da sonuçlanabilir (58, 64).

Tekrarlayan monoartrit AAA'nin ilk ve tek belirtisi olabilir ve bu nedenle Reaktif Artrit, İnflamatuvar Barsak Hastalığı, Reiter Sendromu, Kronik Juvenil Artrit, Behçet Hastalığı gibi benzer bozukluklarla ayırıcı tanısının titizlikle yapılması gerekir (67).

AAA'nin sık görülmeyen bulgularından biri de seronegatif spondiloartropatidir. Bu hastalarda unilateral veya bilateral sakroileit, rekürren entesitis görülür ve HLA B27 (-)'dir. NSAİ ve ikinci kuşak antiromatizmal ilaçlara cevaplıdır; ancak kolşisine yanıt vermez. Omurgada en sık görülen tutulum lomber vertebraların füzyonudur ancak servikal omurga füzyonuna bağlı boyun ağrısı da bildirilmiştir (66).

2.7.1.4. Göğüs Atakları

Göğüs atakları plevra veya perikart iltihabı nedeniyledir ve etkilenen hastaların %30-%40'ında görülür. Çeşitli etnik kökenler arasında görülme sıklığı farklılıklar gösterir. Türkler ve Ermeniler'de Non- Ashkenazi Yahudileri'ne göre daha sıktır (68).

Göğüs atakları karın ve eklem ataklarına benzer bir seyir ile ani başlangıçlı, tek taraflı lokalizasyonu ile karakterizedir ve 48-72 saat içinde kendiliğinden iyileştiği gözlenir. Hızlı ve yüzeysel solunuma sebep olan şiddetli bir ağrı vardır. Fiziksel bulgular genellikle azdır. Bazen, frotman veya perküsyonla dolgunluk alınabilir. Göğüs grafisinde küçük bir plevral efüzyon tarafından kostofrenik açısının kapandığı görülür. Nadiren büyük efüzyon ve hatta atelektazi görülebilir (12, 19).

AAA'nin nadir görülen (%1) bulgularından biri de perikardittir ve komplike olmadıkça tanısı zordur (69). Perikardit ataklarında retrosternal ağrı, EKG'de ST elevasyonu, ekokardiyografide perikardial efüzyona ait bulgular veya göğüs radyogramında kalp gölgesinde geçici genişleme görülebilir (70).

2.7.1.5. Cilt Bulguları

AAA'li hastalarda cilt bulguları farklı bildirilerde olguların %25-47'sinde rapor edilmiştir. Gövdede veya yüzde eritem, anjionörotik ödem, avuç içi ve ayak tabanında

eritem sonrasında hafif deskuamasyon, piyodermi, reynaud fenomeni, subkutan nodüller gibi nonspesifik deri problemleri görülür. Ayrıca HSP ve PAN ile ilişkili olarak vaskülitik deri bulguları da oluşabilir. Erizipel benzeri lezyon AAA'nin %3-46 oranında görülen, iyi bilinen ve patognomonik deri bulgusudur (Şekil-6) (71). Genellikle alt ekstremitelerde dizin alt kısmında görülür. Ayak sırtında veya ayak bileğinde yer alır. Sıklıkla tek taraflıdır. Genellikle geniş bir sahayı etkileyen keskin sınırlı, kızarıklık, sıcak ve hassas bir cilt bölgesi olarak ortaya çıkar. Ateş, artrit ve lökositoz bu duruma eşlik edebilir. Fiziksel aktivite ile tetiklenebilir ve 48-72 saat içinde kendiliğinden yatıştır (56, 58, 71).



Şekil 7. AAA'li bir hastada sol ayak sırtında erizipel benzeri eritem

2.7.1.6. Kas Bulguları

AAA hastalarında çeşitli sebeplerle kas tutulumu olabilir. Kısa veya uzamış febril adale atakları, egzersize bağlı baldır ağrısı, fibromyalji, kolşisin miyopatisi başlıca sebeplerdir (60). Basit myalji %20-30 oranında görülür. Genellikle alt ekstremitelerde yer alır. İstirahat veya NSAİ ilaçlarla 2 günde düzelir. Ateş ve hastanın subjektif şikayetlerini destekleyecek fiziksel veya laboratuvar bulgusu yoktur (72).

Uzamış febril myalji ise şiddetli kas ve karın ağrısı, artrit, diyare, purpura ile karakterizedir. Eritrosit sedimentasyon hızı yükselmiştir (100 mm/saat), lökositoz ve

hiperglobulinemi mevcuttur. Kas enzimleri ve EMG normaldir. Kolşisin ve NSAİ ilaçlara cevapsızken; 1 mg/kg/gün (6 hafta süreyle) prednizolona yanıt verir (73, 74).

2.7.1.7. Akut Skrotal Ataklar

AAA'li hastaların %5'inde görülen bu bulgu çocuklarda ve genç erişkinlerde daha siktir ve 20 yaşından sonra nadir rastlanır. Ataklar genellikle tek taraflıdır ve şişlik, kızarıklık, hassasiyet ile kendini belli eder. Tunica vaginalisin enflamasyonundan ileri gelir. Anatomik bir sekel bırakmadan 12-24 saat sonra kendiliğinden geçer (75). Rekürren ataklarda hidrosel, adezyon ve kan damarlarının strangülasyonu ile nekroz gelişebilir (76).

2.7.1.8. Vaskülit

AAA hastalarında HSP en sık görülen vaskülit olup, sıklığı %5- 7 arasında değişir. HSP geçiren hastalar iyi sorgulandığında birçoğunda AAA olduğu ortaya çıkmaktadır. Diğer sık görülen vaskülit tablosu poliarteritis nodosa (PAN) ise %1 oranında görülür. Çocuk veya adölesan dönemlerinde ortaya çıkan PAN vakalarında AAA mutlaka sorgulanmalıdır (77, 78). AAA'li hastalarda PAN daha küçük yaşlarda ve çoğunlukla hastalığın seyri sırasında ortaya çıkar. Perirenal hematomla komplike olmaya meyillidir, myalji ve deri altı nodüller daha sık görülür (79). Vaskülitin patogenezi ile ilgili immun kompleks mekanizması üzerinde durulmaktadır (80). Hastaların %50'sinde dolaşan immun kompleksler, kompleman tüketimi ve artmış immunglobulin düzeyleri gösterilmiştir. Cilt ve böbrek biyopsi örneklerinde immunglobulinler ve C3'ün gösterilmesi yukarıdaki hipotezi destekler. Bazı enfeksiyöz ajanların tetikleyici rol oynayabileceğini akla getirmektedir (81). AAA'de Behçet Hastalığı (BH) sıklığı da normal popülasyona göre daha yüksek bulunmuştur. Behçet hastalığı en çok Japonlar, Türkler ve bazı Akdeniz Ülkeleri'nde görülen, genetik bir hastalıktır. Temeldeki patoloji vaskülitir (27). Bu iki hastalıkta tedavi hedeflerinde anormal nötrofiller hedef alınmıştır. Kolşisin, mikrotubul fonksiyonlarını inhibe ederek nötrofil kemotaksisi ve motilitesini baskılar ve her iki hastalığın da ilk basamak tedavisidir (82).

2.7.1.9. Renal Tutulum

AAA'de fenotip 1 olarak tanımlanan hastalarda klasik bilinen klinik tablo birlikte amiloidoz da olabilir. Ayrıca IgM nefropatisi, IgA nefropatisi, fokal ve difuz glomerulonefrit, mezenjial proliferatif glomerulonefrit ve hızlı ilerleyen glomerulonefritte de bildirilmiştir (83).

2.7.1.10. Nörolojik Bulgular

AAA hastalarında nadiren nörolojik tutulum görülmektedir. En sık bulgusu baş ağrısıdır. Nadiren aseptik menenjit gelişen vakalar bildirilmiştir (77, 78). Bunun dışında febril konvülsiyon, psödötümör serebri, iskemik strok, optik nörit ve amiloid oftalmopleji gibi bulgular da görülebilir (84-86).

2.7.1.11. Pelvik Tutulum

Kadın AAA hastalarında fertilité olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Bunun nedeninin inflamasyona sekonder gelişen pelvik yapışıklıklar veya abdominal ataklar sonucunda gelişen düşükler olduğu sanılmaktadır (87).

2.7.2. Fenotip 2

Bazı vakalarda AAA semptomları ortaya çıkmadan ileri yaşlarda (13-15 yaş) renal amiloidoz geliştiği gözlenmektedir. Fenotip II olarak gruplandırılan bu hastalarda renal amiloidoz oluşana kadar hastalık asemptomatiktir (14, 57). Etkilenen AAA hastalarının bildirilen insidansı %7 ile %25 arasında değişmektedir. Genellikle, klinik olarak belirgin AAA'li akrabalara sahip ve böbrek AA amiloidoz tanısı alan hastalarda tespit edilir. Bu kişilerde, tipik ataklar böbrek amiloidozu tespit edildikten birkaç yıl sonra belirgin hale gelebildiği gibi; hastalarda tüm yaşam boyunca AAA'nin herhangi bir semptomu görülmeyebilir. Bu tipik atakların yokluğunda bile SAA proteinin persistent yüksek düzeyde olduğunu akla getirir. Bu genelde SAA'nın pülsatil yükselmesi ile ilişkilendirilir. MEVF analizi bu durumlarda zorunludur (19).

2.7.3. Fenotip 3

AAA'nin klasik atakları ya da reaktif amiloidozun klinik belirtileri olmaksızın ikili MEFV mutasyonlarının (homozigot veya birleşik heterozigot) varlığı olarak tanımlanır. Fenotip III olguların sıklığı, daha önce rapor edilen belirgin AAA hastalarının oranını aşarak 40-240 kat (Askenazi Yahudiler 1:300 ve Iraklı Yahudiler 1:25) tahmin edilmiştir. Bu durum ilgili etnik gruplar arasında AAA'li çoğu olgunun etkilenmemiş olduğunu düşündürmektedir. Ancak, belirti veya semptomların yokluğunda bile, iki mutasyonlu fenotip 3 nihayet fenotip II yapısına bürünerek AA amiloidoz gelişimine yatkın hale gelebilir. 'Sessiz taşıyıcı' bireylerin reaktif amiloidoz geliştirme riskini göz önünde bulundurarak, araştırmacılar AAA den etkilenen bireylere sahip ailelerin mutasyonlar için aktif olarak taranması gerektiğini önerirler (19).

2.7.4. AAA Benzeri Hastalık (Yeni Bir Fenotip?)

Camus ve arkadaşları (88) tarafından sadece tek bir bireyin AAA olduğu yedi büyük ailede fenotip III yaygınlığını belirlemek için yapılan çalışmada kardeşlerin %5.7 oranında heterozigot mutasyon taşıyıcısı olduğu görüldü. Bu taşıyıcılar 'AAA- benzeri hastalık' olarak adlandırılan ve AAA'nin hafif veya eksik formu olan hastalıktan etkilenmişlerdi. Bu hastalık ateşsiz epizodik artrit, ateşsiz karın ağrısı atakları ve çocuklukta görülen fakat kendiliğinden erişkin yaşta düzelen ateşli abdominal ataklarla karakterizedir.

Tek bir gen mutasyonu olan hastaların oranı %16.5 ve %33.8 arasında değişmektedir. Diğerleri sadece subklinik inflamasyon (yani yüksek CRP veya SAA düzeyleri) gösterirken ve bazıları klinik hastalıkla kendini belli ederken, bu hastaların bazılarının ömrü boyunca asemptomatik kalmasının nedeni halen bilinmemektedir. Bazı yazarlar, belki diğer modifiye genler ve çevresel faktörlerin değişken penetransın ve hastalığın ekspresivitesinin saptanmasında önemli bir rol oynadığı AAA hastalığı için heterozigot olan hastalarda bile klinik fenotip varlığını öne sürerler. Kısmi penetrans ayrıca vertikal geçişi ve bazı aile üyelerindeki 'FMF-benzeri' formu açıklayabilir (19).

2.8. Amiloidoz

AAA'nin en ciddi ve ölümcül olabilen komplikasyonudur. Amiloidoz terimi, dokular ve organlarda hücre dışı alanda suda erimeyen, fibröz amiloid proteinlerin birikimi sonucunda ortaya çıkan bir grup hastalığın tanımlanmasında kullanılmaktadır. En sık olarak böbrekleri tutar. Böbreklerin dışında barsaklar, karaciğer, dalak, böbreküstü bezleri ve daha az sıklıkla da kalp, akciğer, mide, tiroit ve testisleri de tutabilir. Bunların sonucunda malabsorbsiyon, pulmoner hipertansiyon, adrenal yetmezlik görülebilir (89, 90).

Primer ve sekonder olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Sekonder amiloidozis (Amiloid Associated) non-immunglobulin proteinden oluşur (91). Bu protein inflamasyona yanıt olarak karaciğerde sentez edilen Serum Amiloid A'nın terminal parçasıdır. AAA hastalığı AA- tipi amiloidozis ile komplike olabilir ve bazı hastalarda böbrek yetmezliği oluşturarak prognozu ağırlaştırır. Etnik kökene göre görülme sıklığı değişir; Kuzey Afrika Yahudileri'nde %75, Türkler'de %60 iken Ermeniler'de %2 gibi daha az oranlardadır (29, 73, 92).

AAA'nde kolşisin tedavisinin akut atak epizodlarının sıklığını ve amiloid birikimini azalttığı gösterilmiştir (57). Tedavi edilmeyen hastaların %90'ında amiloidoz gelişebilmektedir (93).

Hastalık birbirini izleyen beş evrede gelişir; asemptomatik, proteinürik, nefrotik, azotemik, üremik dönem. Bu dönemlerin her biri birkaç yıl sürer. Amiloidoz gelişirken erken dönemde idrarda proteinüri görülmektedir. Bu nedenle AAA'li hastalarda tam idrar tetkikinin mutlaka düzenli aralıklarla izlenmesi gerekir. Proteinüri tespit edilen hastalarda biyopsi ile mutlaka amiloidoz gösterilmelidir. Bu amaçla renal, rektal ya da gingival örnekleme yapılabilir (89). Amiloidozlu hastalara kronik böbrek yetersizliği gelişen amiloidozlu hastalara tedavi amaçlı böbrek transplantasyonu yapılabilmekte ve kolşisin değiştirilmiş böbreği ikincil amiloidozdan korumaktadır (28, 94).

2.9. Laboratuvar Bulguları

AAA'li hastalar için kesin tanı koydurucu bir laboratuvar testi yoktur. AAA atakları esnasında nonspesifik bir akut faz yanıtı olur ve CRP, fibrinojen, serum amiloid A, α 2- globulin, β - globulin düzeyleri ve eritrosit sedimentasyon hızı artar. Lökositoz olur (13). AFR yüksekliği AAA için spesifik değildir ve ilk tanıda katkısı yoktur. Ancak, hastalığın seyrini ve hastanın tedaviye cevabının izlenmesinde değerli olabilir (15). Solübil intersellüler adezyon molekülü 1 (sICAM-1), solübil tümör nekroz faktör reseptörleri; p55 ve p75, IL- 1, IL- 6, IL- 8 ve TNF- α atak sırasında hastalarda yüksek bulunur. IL- 6, IL- 8 ve TNF- α nın ataklar arasındaki dönemde de kontrol grubundan yüksek olduğu ve bunun devam eden subklinik inflamasyonun göstergesi olabileceği düşünülmüştür (11, 77). Ataklar arası dönemde %5'ten az hastada normal bulunmuş olan SAA (serum amiloid)'nin subklinik inflamasyonu saptamada en iyi gösterge olduğu sonucuna varılmıştır (95). Endojen antioksidanlar olan serum paraoksonase 1 (PON 1) ve aril esteraz (ARE) enzim düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında AAA tanısı olan hastalarda daha düşük olduğu bulunmuştur (49). İnflamasyonda inhibitör etkiye sahip olan IL- 10 düzeyinin AAA'nde artmadığı, interferon ve serozal sıvılarda C5a inhibitör aktivitesinde de azalma olduğu tespit edilmiştir (14). Nöbetler esnasında eklem aspirasyonu yapıldığında genellikle steril, piyojenik sinovyal efüzyon olduğu görülmektedir. İdrar tahlili normaldir, ancak proteinüri bulgusu renal amiloidoz yönünde endişeyi arttırır (18).

2.10. Tanı

Genotip- fenotip korelasyonların anlaşılmasındaki ilerlemelere rağmen, AAA teşhisi halen klinik olarak konulmaktadır. Genetik testlerin sadece %70–80 pozitif tahmin edici değeri vardır. Çok sayıda mutasyon tanımlanmış olmasına rağmen birçok merkezde genellikle en yaygın görülen 5-10 mutasyona bakılmaktadır ancak mutasyon analizi moleküler tanı açısından fazla tatminkar değildir. Çünkü klinik olarak kesin AAA olan hastaların AAA geni (MEFV) mutasyonları bakımından sadece %70'i homozigot veya bileşik heterozigottur. Geri kalanı heterozigottur veya teşhis edilebilir bir mutasyon yoktur. Öte yandan bazı etkilenmemiş bireylerde iki mutasyon vardır. Bu nedenle mutasyon analizi sadece, klinik tanıya yardım eden bir araçtır (11). AAA'li

hastaların aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyonların iki allelde de taşınabildiği gösterilmiş ve farklı araştırmacılar tarafından farklı öneriler ortaya atılmıştır. Bir grup araştırmacı AAA kliniği ortaya çıkmamış olsa bile özellikle M694V homozigotluğu gibi amiloidozla ilgili olduğu düşünülen durumların tedavisini, diğer bir grup araştırmacı ise tedavisiz izlemine önermektedir. Daha çok kabul gören görüş klinik bulguların ve aile öyküsünün mutasyon analizinden daha önemli olduğu, genetik tanının destekleyici unsur olduğu yönündedir (32).

AAA'nin tanısına yönelik çeşitli ölçütler geliştirilmiş olup; bunlardan en sık kullanılan Tel Hashomer kriterleridir (Tablo 2) (29).

Tablo 2. Tel Hashomer AAA tanı kriterleri

Major kriterler
<ul style="list-style-type: none"> • Poliserözit ile giden tekrarlayan ateş atakları • Başka bir nedene bağlanamayan AA tipi amiloidoz • Sürekli kolşisin tedavisine iyi yanıt
Minor kriterler
<ul style="list-style-type: none"> • Serozit bulguları olmadan yineleyen ateşli ataklar • Erizipel benzeri eritem • Birinci derecede akrabada AAA varlığı

AAA'nin kesin tanısı **2 major** veya **1 major ve 2 minor** kriter varlığına bağlıdır. **1 major ve 1 minor** kriter mevcutsa tanı kesin değil olasıdır.

Livneh ve Langevitz 1997'de bu ölçütleri detaylandırarak yeni kullanılan Arthritis and Rheumatism kriterlerini geliştirmişlerdir (Tablo 3) (59).

Burada dikkat çekici olan kolşisine olumlu cevap minor kriter olarak belirtilmiştir.

Tablo 3. Livneh ve arkadaşlarının AAA tanı kriterleri

Majör Kriterler
<ul style="list-style-type: none"> • Yaygın peritonit • Plörit (tek taraflı) veya perikardit • Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği) • Yalnızca ateş • İnkomplet abdominal ataklar <p><u>Tipik atakların özellikleri</u> (İlk dört kriterdeki): Tekrarlayıcı (aynı yerde 3 den çok), ateşli (rektal, 38°C veya daha yüksek), kısa süreli (12 saat - 3 gün) nöbetler.</p> <p><u>İnkomplet ataklar</u> (beşinci kriter): Aşağıda belirtilen özelliklerden birisi veya ikisi bakımından tipik ataklardan farklı, ağrılı ve tekrarlayıcı ataklardır;</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Normal veya 38°C den düşük ateş 2 - Klasik nöbetlerden daha uzun veya daha kısa nöbetler (fakat 6 saatten kısa veya 1 haftadan uzun değil) 3- Abdominal ataklar esnasında peritonit bulgularının olmaması. 4- Lokalize abdominal ataklar 5- Spesifik yerlerden başka yerleri tutan artrit
Minör Kriterler
<ul style="list-style-type: none"> • İnkomplet göğüs atakları • İnkomplet artrit atakları • Egzersiz ile ortaya çıkan bacak ağrısı • Kolşisine iyi cevap
Destekleyici kriterler
<ul style="list-style-type: none"> • Ailesinde AAA bulunması • Etnik köken • Atakların 20 yaşından önce başlaması • Atağın ciddi yatak istirahatı gerektirmesi • Atakların kendiliğinden geçmesi • Ataklar arası semptom olmaması • Geçici inflamasyonu gösteren anormal test cevabı (lökositoz, ESR, fibrinojen, SAA artışı) • Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri • Gereksiz laparotomi vya apendektomi hikayesi • Akraba evliliği

Yalçinkaya ve ark. (96) yakın zamanda, ağrının yer ve ciddiyetini ifade edemeyen çocuklarda Tel Hashomer major kriterinin bazı limitasyonları olduğunu gözlemlemişlerdir ve yeni tanı kriterleri önerilmiştir (tablo-4). Ancak bu yeni önerilen kriterlerin doğrulanması için farklı etnik gruptan olan çocukların verileri çalışılmalıdır (19).

Tablo 4. Yalçinkaya ve arkadaşlarının önerdiği AAA tanı kriterleri

-
- Ateş (aksiler ateş ≥ 38 °C),
 - Karın ağrısı (6- 72 saat süreli 3 ve üçten fazla atak)
 - Göğüs ağrısı (6- 72 saat süreli 3 ve üçten fazla atak)
 - Artrit (6- 72 saat süreli 3 ve üçten fazla atak)
 - Ailede AAA hikayesinin olması
-

2.11. Hastalık Ağırlık Skorlaması

Hastalığın ağırlığını belirleyebilmek amacıyla Pras ve ark. tarafından kriterler ve puanlama sistemi geliştirilmiştir. Hastalığın ciddiyeti her bir parametredeki skorların toplamıdır. Skor 3-5 hafif hastalığı, 6-8 orta hastalığı ve > 9 ciddi hastalığı yansıtır (Tablo 5) (97).

Tablo 5. AAA için belirlenen hastalık ağırlık skorlaması

<u>Parametre</u>	<u>Özellikler</u>	<u>Skor</u>
Başlangıç yaşı	>31	0
	21-31	1
	11-20	2
	6-10	3
	<6	4
Ayda atak sayısı	<1	1
	1-2	2
	>2	3
Artrit	Akut	2
	Kronik	3
Erizipel benzeri eritem	Varsa	3
Amiloidozis	Varsa	3
Kolşisin dozu	1 mg/gün	1
	1,5 mg/gün	2
	2 mg/gün	3
	>2 mg/gün	4

2.12. Ayırıcı Tanı

AAA'in ayırıcı tanısı geniş bir hastalıklar grubunu kapsamaktadır. Bunlar periyodik ateş sendromları ve AAA'ne benzer semptomları olan diğer hastalıklardır (Tablo 6) (12).

Diğer otoinflamatuvar ve periyodik ateş sendromları: Hiperimmunoglobulin D sendromu (HIDS) (mevalonat kinaz eksikliği); TNF reseptör ilişkili periyodik sendrom (TRAPS); Periyodik ateş, Aftöz stomatit, Farenjit, Adenopati (PFAPA) Sendromu, Kronik İnfanitil Nörolojik Kutenöz Artropati Sendromu (CINCA), Ailesel Soğuk Ürtiker Sendromu, Muckle-Wells Sendromu (MWS) (Kriyoprinopati), Transthyretin- İlişkili Amyloidosis (19, 46, 98).

Tablo 6. AAA ataklarının ayırıcı tanısına giren hastalıklar

<u>Ateşli karın ağrısı atakları</u>	<u>Ateşsiz karın ağrısı atakları</u>	<u>Göğüs atakları</u>
Piyelonefrit	Nefrolityazis	İnfeksiyöz plöroperikardit
İdrar yolu iltihabı	Kolelityaz	Otoimmün plöroperikardit
Pelvik enflamatuvar hastalık	Peptik ulcus	Rekürren benign perikardit
Pankreatit	Ovülasyon ve menstrüasyon	Plöropnömoni
Behçet Hastalığı	Hemoliz	Rekürren pulmoner emboli
İnflamatuvar barsak hastalığı	Orak hücreli anemi	
Hiperimmünglobulin D send.	Abdominal epilepsi	
Kronik divertikülit/apandisit	Sifilitik nöropati	
Ailesel İrlanda'lı ateşi (fhf)	Porfiriya	
<u>Febril Ataklar</u>	<u>Eklem Atakları</u>	<u>Skrotal Ataklar</u>
PFAPA	Behçet Hastalığı	Testis torsiyonu
Hiperimmünglobulin D send.	Reiter Sendromu	Epididimit
Chron hastalığı	Spondiloartropati	Orşit
Allerjik reaksiyon	Sarkoidoz	Behçet Hastalığı
Siklik nötropeni	Juvenil idiyopatik artrit	
Hodgkin ve non-hodgkin len.	Gut	
Malarya	Romatizmal eteş	
Suni ateş	Septik artrit	

2.13. Tedavi

AAA'nin atakları proflaktik kolşisin tedavisi ile önlenir. 0.02- 0.03 mg/ kg/ gün; maximum 2 mg/ gün dozunda bir veya iki doza bölünmüş şekilde kullanılması önerilir. Genellikle başlangıç dozu 5 yaş altı çocuklar için 0,5 mg/ gün; 5-10 yaş için 1 mg/ gün; 10 yaş üstünde ise 1,5 mg/ gün olmalıdır. Hastaların %65'inde atakların remisyona girdiği; %20- 30 epizotların sayısı ve şiddetinin azaldığı; %5-10'unda ise yanıt olmadığı görülür. Ayrıca amiloidoz gelişme olasılığını önemli ölçüde azaltır (46). Gerçek etkisi ancak sürekli kullanıldığı zaman ortaya çıkmaktadır. Kolşisin tüm yaşam boyunca kullanılması zorunludur. Sadece bir gün alınmaması bile atakla sonuçlanabilir, bu nedenle hastaların tedavi programına düzenli bir şekilde uymaları gereklidir. Tedaviye ara verilir verilmez ataklar yeniden başlamaktadır.

Kolşisin, zambak ailesinden Colchicum autumnale (çayır safranı) bitkisinden üretilen bir alkaloiddir. Karadeniz'in doğu kıyısında eski adı Colchis olan yerde yetişen bitkiden elde edilir. İlk kez 6. yüzyılda gut hastalığı için kullanıldığı sanılmaktadır (99). 1972 yılında Goldfinger ve Emin Özkan tarafından kolşisin AAA ataklarının önlenmesinde etkili bir ilaç olduğu bildirilmiştir (26, 28).

AAA'li hastalarda kolşisin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber hücre içi mikrotübüllerle etkileşime girerek, hücre içi granüllerin taşınmasını ve medyatörlerin salınımını engellediği sanılmaktadır (19, 100). Kolşisin polimorf nüveli lökositlerde sitokin üretimini kontrol eder. İnflamasyon bölgesine ekstrasvazyon ve migrasyonu sağlayan adezyon moleküllerinin (e- selektin, alfa selektin) ekspresyonunu azaltır. İnflamasyonun başlangıcındaki C5a salınımını azaltarak lökosit kemotaksisini önler. Hücre içinde mitoz ve motilite için gerekli olan fibriler yapıların oluşumunu önler. Hücre bölünmesini metafazda durdurarak ekstrasellüler amiloid alt birimlerinin amiloid fibrillerine dönüşümünü engeller (101).

GIS yan etkilerinden dolayı tedaviye uyumsuzluk olması tedavinin başarısızlığına yol açar. Kolşisin kullanan hastaların büyük çoğunluğunda diyare ve dispeptik belirtiler ve laktoz intoleransı geliştiği gösterilmiştir. Bu hastalara laktozdan fakir diyet verilmesi semptomları azaltmıştır (102). Ayrıca B12 malabsorbsiyonuna ve

nadir vakalarda alopesiye neden olabilir. 0,1 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda akut myopati, kemik iliği hipoplazisi gibi toksik etkiler görülebilir; 0,8 mg/ kg ve üzerindeki dozlar ölümcül olabilir (46). Toksik yan etkiler ortaya koyabileceğinden makrolidler, diltiazem, greyfurt ve siklosporin kolşisin ile alınmamalıdır (19).

İnterleukin- 1 (IL- 1) reseptör antagonisti (Anakinra), bir anti- IL- 1 monoklonal antikor (Canakinumab), interferon- alfa ve selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), bazı hastalarda cesaret verici sonuçlar göstermiş olsa da, kolşisini tolere edemeyen hastalar, etkili hiçbir alternatif yoktur (102).

2.14. Komplikasyonlar ve Prognoz

Tedavi edilmemiş çocukların %30-50'sinde ve erişkinlerin %75'inde bir akut faz reaktanı olan serum amiloid A (SAA) proteininden AA amiloidozis ve bunun sonucunda renal amiloidozis gelişir. Renal tutulumun bulgusu protenüridir. Bu durum, nefrotik sendrom, aylar ve birkaç yıl içinde de renal yetmezlik ile sonuçlanır. Tranplantasyon gerekebilir. AAA'li hastalarda mortalite genellikle enfeksiyon, tromboembolizm ve üremi gibi amiloidoz ve renal yetmezliğin komplikasyonları nedeniyle olur. AAA'nin diğer nadir komplikasyonları ise eklem kontraktürleri, abdominal yapışıklıklar ve bazı sosyal problemlerdir (46).

AAA'nde erken tanı ve düzenli kolşisin tedavisi ile hastalık kendi kendini sınırlar.

2.15. Moleküler Teknikler

Mutasyon DNA dizisinde meydana gelen kalıcı değişimdir. DNA'daki sekans varyasyonlarının saptanması hem kalıtsal hem de genetik hastalıkların teşhisinde büyük önem taşır. Mutasyonların tarama ve saptanması amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin kendi içinde hassasiyet, çalışma süresi ve maliyet açısından avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. DNA dizi analizi mutasyon taramasında altın standart olarak kabul edilen hassasiyeti oldukça yüksek bir yöntem olmasına rağmen maliyetlidir ve çok aşamalı bir prosedür gerektirmektedir (103).

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu); laboratuvar ortamında spesifik DNA dizilerinin; primer denilen sentetik oligonükleotid diziler yardımıyla çoğaltılması işlemidir. 1987 yılında keşfedilmiştir. PCR işlemleri sırasıyla:

1- DNA denatürasyonu (ayrılma): DNA 95 dereceye kadar ısıtılır ve DNA'nın her iki ipliği birbirinden ayrılır.

2- Hibridizasyon (bağlanma- meleleşme): Hedef bölgede birbirinden ayrılmış iki ayrı DNA iplikçikleri karşılıklı zıt uçlarından uygun primerler ile hibridize olur.

3- Annealing (uzama): Her iki uçtan bağlanan uygun primer çiftleri Taq Polimeraz enzimi vasıtasıyla uygun nükleotidleri sırasıyla DNA ipliğine bağlayarak zincire katar ve uzatır. Sonunda her iki ipliğin kopyası elde edilmiş olur. Bu işlem defalarca tekrarlanır ve DNA çoğaltılmış olur. Genellikle 25- 40 döngü uygulanır. (104).

2.15.1. ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction)

ARMS-PCR yöntemi genomik DNA'daki nokta mutasyonlar ve küçük delesyonlar veya insersiyonların tanımlanması amacıyla kullanılmaktadır. 1989 yılında tanımlanmış olan bu yöntem, birbirini tamamlayan iki reaksiyon basamağında gerçekleştirilmektedir. Bu basamaklarından biri mutasyona, diğeri normal diziye spesifik primerler içerdiği için bu yöntemle kişide mutasyon olup olmadığı ortaya konduğu gibi homozigot/ heterozigot ayrımının yapılması da sağlanmaktadır. ARMS-PCR yöntemi iki reaksiyon tüpünde gerçekleştirilmektedir. Tüplerden birinde (A tüpü) normal diziye, diğesinde ise (B tüpü) mutant diziye özgün primerler kullanılmaktadır. İkinci primerler ortaktır (common primer) ve her iki tüpe de konulur. Bu primerlerle bir mutasyon için iki ayrı tüpte (A ve B tüpleri) genomik DNA amplifikasyonu yapıldıktan sonra PCR ürünlerine agaroz jel elektroforezi uygulanır. Amplifikasyon sadece A tüpünde gerçekleşmiş ise kişi araştırılan mutasyon yönünden normal, sadece B tüpünde gerçekleşmiş ise homozigot mutant, her ki tüpte de gerçekleşmiş ise heterozigottur (105).

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

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 tabii tutulur ve jel etodyum 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 (105).

2.15.3. Striple Mutasyon Analizi

Bu yöntemde DNA izolasyonundan sonra kaç bölge çoğaltılacaksa o kadar PCR yapılır (PCR multiplex). AAA hastalığında 12 bölge çoğaltılır. Daha sonra bu 12 ayrı ürün strip (çubuk) üzerindeki uygun bölgelere kendini hibridize eder (bağlar). Strip üstünde her bölgenin bir mutant birde normal bölgesi yer almaktadır. Allel genlerin her ikisi de sadece normal gen bölgesine bağlanırsa kişi o noktada normaldir. Allel genlerden her biri hem mutatik bölge ile hem de normal bölge ile bağlanırsa kişi heterozigottur. Allellerin her ikisi de sadece mutatik bölge ile bağlanıp normal bölgeye bağlanmazsa kişi o noktada homozigot hastadır (104).

2.15.4. DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi, gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında bir çok bilgi edinmemizi sağlamıştır. Herhangi bir organizmadan çok miktarda saf DNA elde edilmesini sağlayan rekombinant DNA tekniklerinin gelişmesine paralel olarak DNA dizi analizi yöntemleri de gelişme göstermiştir. Bu yöntemle ilgili araştırmalar 1960'lı yıllarda başlamıştır (106).

DNA Dizi Analizinde günümüzde birbirinden farklı iki yöntem kullanılmaktadır. Bu iki yöntem;

- 1- Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi (107).
- 2- Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemi. (108).

Allan MAXAM ve Walter GİLBERT 'in geliştirdikleri yöntemin prensibi hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asit 'in, DNA'da bulunan bazıları özgül olarak değiştirmesine ve daha sonra eklenen piperidinin değişikliğe uğramış nükleotitlerin bulunduğu noktalardan zinciri kırmasına dayanır (109).

DNA dizi analizinde kullanılan diğer bir yöntem de Fred SANGER ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem olan zincir sonlanma yöntemidir (110). Bu yöntem enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir. Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. DNA sentezini sağlamak için Klenov, Taq DNA polimeraz, ters transkriptaz ya da sekuenaz enzimlerinden birisi kullanılabilir. Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanısıra deoksiribozun 3'pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. Sentezlenen DNA'ya bir ddNTP'nin katılması 3'pozisyonunda OH grubu olmadığı için sentezi durdurur. Dizi analizi yapılırken dört ayrı reaksiyon karışımı hazırlanır. Her bir karışım kalıp DNA zinciri, bir primer, dNTP'lerin dördü ve az miktarda ddNTP'lerden birini içerir. Özgül zincir sonlanması için her bir reaksiyonda farklı bir ddNTP bulunur. Reaksiyonların her birinde çok az miktarda modifiye nükleotit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak bir dizi DNA fragmenti meydana gelir. Reaksiyonlar sonucu elde edilen DNA parçalarına elektroforez uygulanarak jel üzerinde yan yana yürütülür. Uygulanan elektriksel alanın etkisi ile DNA parçacıkları en kısası en önde olmak üzere jel üzerinde bir merdiven görüntüsü oluşturur. İşaretleme yöntemine göre jel üzerinde, tespit edilen parçacıklar reaksiyon karışımına konulan ddNTP'nin tipine göre okunur (110).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda klinik olarak Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) tanısı almamış sağlıklı toplam 250 çocuktan DNA örnekleri alınması ve MEFV geni Ekzon 2 ve Ekzon 10 gen bölgesi mutasyonlarının araştırılması ile bölgemizdeki MEFV gen mutasyonu taşıyıcılık oranının belirlenmesi amaçlandı.

Erzurum İli'nde MEFV mutasyonu taşıyıcılık sıklığını belirlemek amacıyla örneklem hacmi hesaplandı. Örneklem hacmi hesaplanırken tip I hata (alfa)= 0,05, tip II hata (beta)=0,2, tahmini mutasyon prevalansı %20 (32) ve d=0,08 alındığında en az 232 kişinin araştırmaya alınması gerektiği belirlendi. Bu nedenle çalışmaya Erzurum İli'nde mevcut okullara devam eden ve daha önce AAA tanısı almamış olan sağlıklı 250 lise öğrencisi dahil edildi. AAA hastalığı klinik olarak %90 oranında 20 yaşından önce belirti verdiği için araştırma grubu olarak özellikle lise öğrencileri seçildi. Bu yaşa kadar klinik AAA hastalığı tanısı almamış olmaları bu kişilerde bu hastalığın ekarte edilmiş olma ihtimalini arttırdığından mümkün olan en ileri yaştaki kişiler çalışmaya alınmıştır. Türk FMF Çalışma Grubu tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada 2838 vakanın değerlendirilmesi ile AAA hastalığının başlangıç yaşı ortalama 9,6, tanı alma yaşı ise 16,4 olarak bildirilmiştir (28).

Bu çalışma için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (03.01.2013; Karar No: 3) ve Erzurum İl Milli Eğitim Müdürlüğü'nden (No: 674377) gerekli izinler alındı. Belirlenen çalışmaya uygun adultların aileleri çalışma konusunda bilgilendirildi ve Ek 1'de mevcut olan onam formu imzalatılarak onayları alındı. Livneh ve ark. (59) AAA tanı kriterleri kullanılarak anket formu düzenlendi. Bu formda örneklerin adı, soyadı, cinsiyeti, doğum tarihi, doğum yeri, memleketi, adres, irtibat telefonu, okul adı ve sınıfı ile ilgili bilgiler ile AAA hastalığına yönelik şikayetler sorgulandı (Ek-2). Bu form çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılar tarafından dolduruldu.

Anket formlarının dağıtımı, kontrolü, şikayetlerin sorgulanması ve genetik analiz için planlanan kan alınması işlemi tez araştırmacısı klinisyen tarafından gerçekleştirildi. İkinci aşamada çalışmaya katılan kişilerden AAA şüpheli olanlar Pediatrik Nefroloji Polikliniği'ne çağrıldı ve ayrıntılı anamnezleri alınarak, fizik

muayeneleri yapıldı ve gerekli laboratuvar tetkikleri yapılarak klinik AAA hastası olup olmadıkları araştırıldı. Bunlar:

1. Mutasyon tespit edilen ve anket formunda belirtilen yakınmaları AAA ile uyumlu olanlar,
2. Hiçbir mutasyon tespit edilmemesine rağmen şikayetleri AAA şüphesi uyandıranlar,
3. Şikayeti olsun veya olmasın homozigot, kompleks genotip ve birleşik heterozigot genotipe sahip katılımcılardır.

3.1. Moleküler Çalışmalar

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) (2011/ 04 sayılı proje) tarafınca desteklenen çalışmamız için DNA izolasyonu ve genetik analizin yapılması amacıyla 250 adet kit (GML®, Seqfinder MEFV Sequencing Kit) alımı yapıldı.

3.1.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Gönüllülerden 2 cc periferik kan alındı ve EDTA'lı (ethylene diamine tetraacetic acid) tüplere konuldu. DNA izolasyonu otomatik DNA izolasyon cihazında yapıldı. DNA izolasyonu için MagNA Pure Compact®- Roche cihazı kullanıldı. 200 µl kan örneğinden 100 µl DNA elde edildi.

3.1.2. DNA Dizi Analizi İçin Hazırlık Aşaması

Çalışmamızda Sanger DNA dizi analizi yöntemine dayalı ABI 3130 otomatize DNA Sequencer (Applied Biosystems®, Foster City, CA, USA) cihazı kullanıldı.

3.1.3. Ekzon 10 ve Ekzon 2 için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Hazırlanması

Çalışmamızda ticari olarak satın alınan 'GML® SeqFinder Sequencing System MEFV kit' Exon 10 primerleri ve Exon 2 primerleri kullanıldı. Toplam reaksiyon hacmi

25 µl olacak şekilde aşağıda belirtildiği şekilde bileşenler sırasıyla 0.2 µl steril PCR tüplerine kondu. PCR işlemi otomatik sıcaklık döngüsü sağlayan cihazda (Bio-Rad My Cycler®) yapıldı.

MEFV geninin Ekzon 10 ve Ekzon 2 bölgeleri için PCR bileşenleri ve miktarları:

1. Master mix	12.5 µl
2. dH ₂ O	2 µl
3. G/C enhancer	4 µl
4. Primer forward	2 µl
5. Primer reverse	2 µl
6. DNA	2.5 µl

Ekzon 10 ve Ekzon 2 Bölgeleri PCR için gereken şartlar:

1. 95 °C sıcaklıkta 10 dk. 1 döngü.
2. 95 °C'de 40sn, 62°C'de 1dak, 72°C 'de 50 sn toplam 35 döngü.
3. 72°C'de 7 dk. 1 döngü.

3.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Ürünlerinin Temizlenmesi

MEFV geni ilk PCR işlemi ile çoğaltıldıktan sonra dizi analizi yapılacak ürünlerin temiz olması gerekmektedir.

Pürifikasyon (PCR artıklarından temizlik) için herbir örneğe 1 PCR tüpü kullanılarak içine 2 µl 'Exo-SAP PCR purification Kit (UAB Corporation, Cleveland, Ohio, USA)' kondu. Üzerine herbir örneğin PCR dan sonra elde edilen amplikonlarından 5 µl eklendi. Toplamda 7 µl olacak şekilde PCR cihazına konuldu (Bio-Rad My Cycler). (37°C'de 30 dak, 80°C'de 15 dak, +4'de sonsuz).

MEFV Ekzon 10 ve Ekzon 2 Bölgesinin işaretli ddNTP (Big Dye Kit; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ler ile çoğaltılması için PCR reaksiyonunun hazırlanmasına geçildi.

MEFV geni Ekzon 10 ve Ekzon 2 Bölgelerinin işaretli ddNTP ler ile çoğaltılması için 10 µl'lik PCR reaksiyonunda kullanılan bileşenler ve miktarları:

- | | |
|--|--------|
| 1. 5X Sekans buffer | 2 µl |
| 2. dH ₂ O | 2 µl |
| 3. Big Dye kit | 2 µl |
| 4. Primer Ekzon 10 (forward –reverse) | 2 µl |
| 5. Pürifikasyon ürünü | 2 µl |
| 6. Taq DNA polimeraz | 0,3 µl |

MEFV geni Ekzon 10 ve Ekzon 2 Bölgelerinin işaretli ddNTP 'ler ile çoğaltılmasında kullanılan PCR ısıl değişiklikleri:

1. 96°C'de, 1 dk, 1 döngü.
2. 96°C'de, 10 dk, 50°C'de, 5 dk; toplam 25 döngü.
3. 60°C'de, 4 dk, 3 döngü.

Yukarıdaki PCR işlemleri bittikten sonra ürünler tekrar bir temizleme işleminden geçirildi. Sefadexli kolonları içinde bulunduran santrifüj tüpleri üzerine örnek isimleri ve çalışılan bölge yazıldı (her bir örnek için hem Ekzon 10 hem de Ekzon 2 için iki ayrı tüp alındı). Sefadexli tüplerin üzerine 700 µl distile su kondu. 5200 RPM de 3 dk. santrifüj edildi. Tüpün altında kalan su atıldı. İkinci PCR de elde edilen ürünler sefadexli kolonlara 10'ar µl ilave edildi. Her bir örnek için hem Ekzon 10, hem de Ekzon 2 için iki ayrı tüpte işlem yapıldı. 5200 RPM'de 3 dk. santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra kolonlar atıldı, tüpün altında kalan PCR ürünleri pürifiye edilmiş olarak kullanıldı.

3.1.5. DNA Dizi Analiz Reaksiyonu ve DNA Dizi Analizlerinin Değerlendirilmesi

DNA dizi reaksiyonları daha önceden elde edilen PCR ürünlerinin floresan işaretli dideoksinükleotitlerin kullanılması esasına dayanır. Ürünler Cycler sequencing işleminde PCR kalıp DNA işlevi görür. DNA polimeraz eşliğinde tek bir primer yardımı ile floresan işaretli ddNTP zincire girer ve reaksiyon normal PCR döngüsü gibi iş görür. Primerlerin uzaması sırasında işaretli olan ddNTP 'lerin bağlanması ile zincirin sonlanıp reaksiyon sonucunda oluşan renkli DNA parçalarının polimer yardımıyla ayrışıp yürüme sonucunda ortaya çıkan renkli pikler lazer okuyucusu tarafından saptandı ve analiz programında örnekler tek tek analiz edildi.

DNA dizi analiz değişimleri referans dizisi ile karşılaştırılarak tesbit edildi. ABİ 3130 genetik analiz sistemde genotipleme 'SeqScape v2.6' ve 'Sequencing Analysis 5.3.1 version' programı ile yapıldı. Her mutasyon bölgesindeki heterozigot ve homozigot baz değişimleri bu yazılım aracılığı ile belirlendi.

3.2. İstatistiksel Analiz

Statistical Package for Social Science (SPSS for Windows 18) bilgisayar programı kullanılarak veri tabanı oluşturuldu ve istatistik değerlendirme yapıldı. Hazırlanmış olan veri toplama formu ile elde edilen gönüllülerin mutasyon varlığına göre cinsiyeti, memleketi (etnik köken açısından), karın ağrısı, yaygın ve şiddetli kas ağrısı, eklem bulgusu, erizipel benzeri döküntü, karın ağrısı sebebinin araştırılması amacıyla operasyon öyküsü, birinci derece akrabalarında hastalığın olup olmadığı, anne ve baba arasında akraba evliliği gibi kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki kare (gerektiğinde Fisher Exact Test) testi kullanıldı. İstatistiksel önemlilik düzeyi $p < 0,05$ alındı. 2003-2010 yılları arasında polikliniğimizden takip edilen AAA hastalarının mutasyon sonuçları ile çalışma grubumuzdan elde edilen sonuçların karşılaştırılmasında Ki kare (gerektiğinde Fisher Exact Test) testi kullanıldı. İstatistiksel önemlilik düzeyi $p < 0,05$ alındı. Mevcut çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla tanısal doğruluk değerleri duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer gibi hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı Bulgular

Erzurum İl'inde mevcut olan liselerde okuyan ve bugüne kadar AAA tanısı almamış, başka bir sistemik hastalığı da bulunmayan, sağlıklı 250 gönüllüden oluşan çalışma grubumuzun 162'si erkek (%64,8) ve 88'i kız (%35,2) idi. Yaş ortalaması 16,6 ($\pm 0,9$) olarak hesaplandı.

Çalışmaya katılanların memleketlerine göre dağılımları incelendiğinde %90'ının Erzurumlu olduğu görülmektedir (Tablo 7).

Tablo 7. Çalışmaya alınan kişilerin memleketlerine göre dağılımı

Memleketi	Sayı (n)	Yüzde (%)
Erzurum	225	90,0
Kars	4	1,6
Ağrı	3	1,2
Sivas	2	0,8
Samsun	2	0,8
Trabzon	2	0,8
Bayburt	2	0,8
Artvin	2	0,8
Mersin	1	0,4
Ankara	1	0,4
Hatay	1	0,4
Konya	1	0,4
Eskişehir	1	0,4
Erzincan	1	0,4
Ordu	1	0,4
Çorum	1	0,4
Total	250	100,0

Anket formlarında beyan edilen bilgilerden tespit edilen en sık yakınma yaygın ve şiddetli kas ağrısı (%22,4); diğerleri ise diz ve diğer eklemlerde ağrı, şişlik, kızarıklık

yakınmaları (%19,2), ateşin eşlik ettiği karın ağrısı (%16,4), göğüs ağrısı (%16) ve cilt döküntüsü (%5,6) şikayetlerinin olmasıydı. Akut batın nedeniyle operasyon öyküsü olanların oranının %4,4 olduğu görüldü (Tablo 16). Kas ve eklemlerle ilgili yakınmaların bu kadar yüksek olmasının nedeni adölesan dönemindeki gençlerin aşırı fiziksel aktivitelerine ve/ veya veri toplama formunda mevcut AAA hastalığını düşündürecek şikayetler ile ilgili soruları özensizce cevaplamış olabileceğine dayandırıldı. AAA hastalığı açısından şüpheli görülen toplam 66 katılımcı Pediatrik Nefroloji Polikliniği'nde tekrar değerlendirildi ve 3 katılımcının AAA hastalığı açısından şüpheli olduğu görüldü, önerilerde bulunuldu ve atak anında gelmek üzere takibe alındı. Çalışmamıza katılanlardan 1 kişiye AAA tanısı kondu. Klinik olarak AAA tanısı almayan diğer örnekler şikayetlerin ayırıcı tanısı için ilgili bölümlere refere edildi.

Tablo 8. Katılımcılarda mevcut olan yakınmaların dağılımı

Yakınma	Sayı (n)	Yüzde (%)
Yaygın ve şiddetli kas ağrısı	56	22,4
Dizlerde veya diğer eklemlerde ağrı, şişlik, kızarıklık	48	19,2
Ateşin eşlik ettiği karın ağrısı şikayeti	41	16,4
Göğüs ağrısı	40	16
Ayak bileği ve ayak sırtında yanıcı tarzda kızarıklık	14	5,6
Akut batın nedeniyle operasyon öyküsü	11	4,4

AAA düşünülen 17 yaşındaki kız hastanın başlangıç zamanını tam olarak hatırlamadığı yaklaşık ayda 1 olan ve ortalama 2 saat süren karın ağrısı ve ateş yüksekliği şikayetlerinin yanısıra, atak döneminde gelişen ve tekrarlamayan sol dizinde ağrı, kızarıklık ve şişlik yakınması da mevcuttu. Livneh ve arkadaşlarının (59) AAA tanı kriterlerine göre 2 major (inkomplet abdominal ataklar, monoartrit (diz), 4 destekleyici (atakların kendiliğinden geçmesi, ataklar arası semptom olmaması, etnik köken, atakların 20 yaşından önce olması) şartlarını karşılayan hastaya AAA tanısı kondu. Genetik analiz sonucunda hastada M694V- R761H birleşik heterozigot MEFV mutasyonu tespit edildi. Laboratuvar tetkiklerinde akut faz reaktan yüksekliği ve idrarda proteinüri saptanmadı ve hasta yakın takibe alındı.

Çalışmaya alınan 250 kişiden 69'unda (%27,6) MEFV geninde mutasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Katılımcılardan MEFV mutasyonu tespit edilenlerin sayısı ve oranları

Mutasyon	Sayı (n)	Yüzde (%)
Var	69	27,6
Yok	181	72,4
Toplam	250	100,0

Çalışmamızda en sık E148Q mutasyonu (14 heterozigot, 4 homozigot, 1 birleşik heterozigot, 1 kompleks genotip olmak üzere toplam 25 allel) saptanmıştır. İkinci sıklıkta M694V mutasyonu tespit edilmiştir (16 kişide heterozigot, 4 kişide birleşik heterozigot toplam 20 allel). V726A, A744S, M680I, R761H, P369S, R202Q, K695R belirlenen diğer mutasyonlardır (Tablo 10). Toplam 9 farklı mutasyon tespit edilmiştir.

Tablo 10. Çalışmamıza katılanlarda tespit edilen mutant allel frekansı

Mutant Alleller	Allel sayısı	Yüzde (%)
E148Q	25	5
M694V	20	4
V726A	9	1,8
A744S	7	1,4
M680I	7	1,4
R761H	4	0,8
P369S	3	0,6
R202Q	2	0,4
K695R	2	0,4
Normal Allel	421	84,2
Toplam	500	100

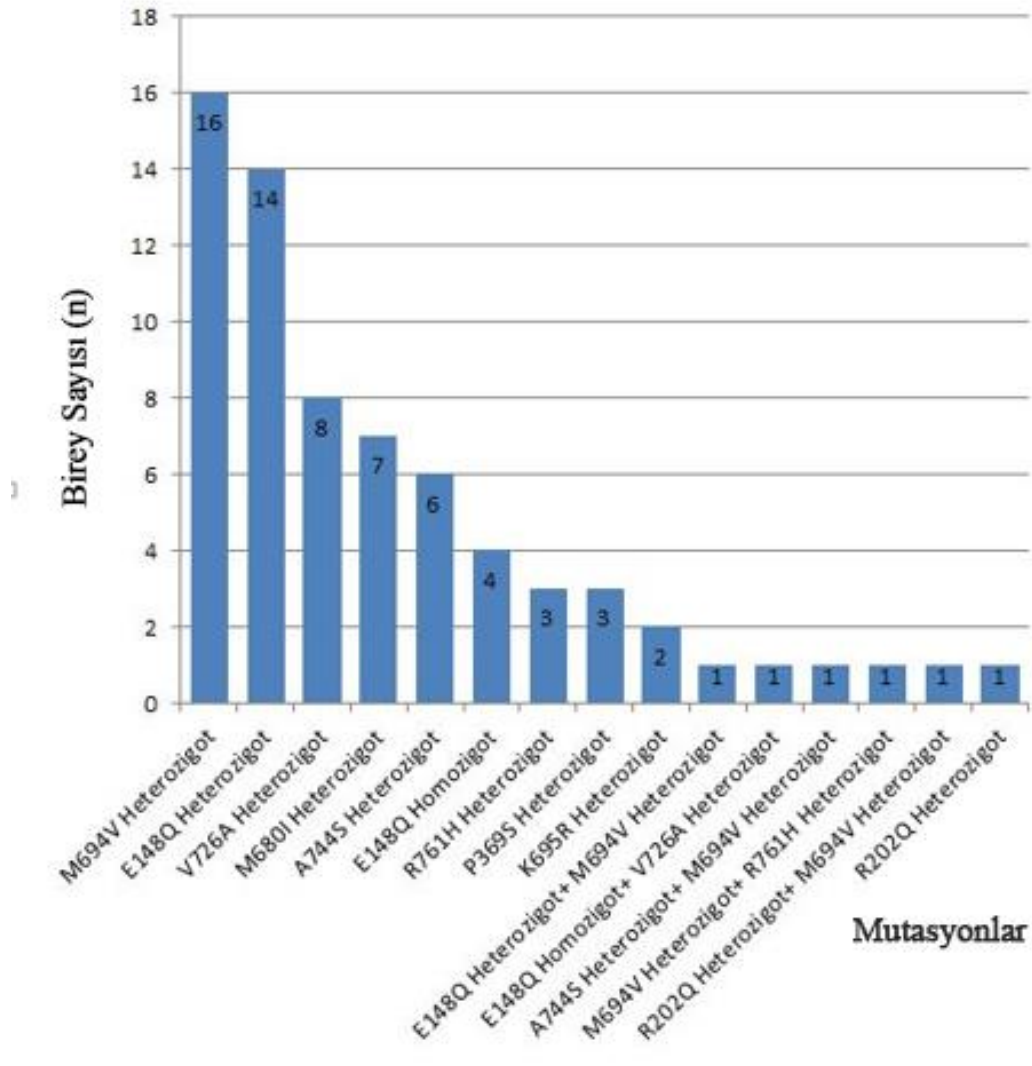
Sağlıklı adölesanların genotip dağılımları incelendiğinde 30 kişide heterozigot genotip (%24), 4 kişide homozigot (%1,6), 4 kişide birleşik heterozigot (%1,6), 1 kişide ise kompleks genotip (%0,4) tespit edildi.

Çalışmamızda taradığımız sağlıklı bireylerde hiç M694V homozigotluğu tespit edilmemiştir. Dört kişide (%1,6) E148Q homozigot, dört kişide (%1,6) birleşik heterozigot, bir kişide (%0,4) kompleks genotip mutasyon saptanmıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Çalışmamıza katılan sağlıklı adölesanlarda tespit edilen genotip dağılımları

Genotip	Saptanan mutasyonlar	Vaka sayısı (n)	Yüzde (%)
Heterozigot (n: 60)	M694V	16	6,4
	E148Q	14	5,6
	V726A	8	3,2
	M680I	7	2,8
	A744S	6	2,4
	R761H	3	1,2
	P369S	3	1,2
	K695R	2	0,8
	R202Q	1	0,4
Homozigot (n: 4)	E148Q- E148Q	4	1,6
Birleşik heterozigot (n: 4)	E148Q- M694V	1	0,4
	A744S- M694V	1	0,4
	M694V- R761H	1	0,4
	R202Q- M694V	1	0,4
Kompleks genotip (n: 1)	E148Q- E148Q- V726A	1	0,4
Normal		181	72,3
Toplam		250	100

Erzurum İli'nde yaşayan sağlıklı adölesanların genotip dağılımları Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Erzurum İli'nde yaşayan sağlıklı adölesanlarda saptanan MEFV genotip dağılımı

Bölgemizde sağlıklı bireylerde tespit edilen AAA gen mutasyonları ile, hastalığa yol açan AAA gen mutasyonlarını karşılaştırmak amacıyla Atatürk Üniversitesi Çocuk Nefroloji Kliniği'nden takipli, AAA tanılı 197 çocuk hasta ele alındı. Bu hastalarda tespit edilmiş olan mutasyonların dağılımı tablo-12'de görülmektedir. AAA hastalarında en sık saptanan genotip M694V- M694V (%25) olmuştur. Diğer sık görülen genotipler sırasıyla M694V/- ve M694/ diğer (birleşik heterozigot) şeklinde tespit edilmiştir.

Tablo 12. AAA tanılı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji Kliniği'nde takipli hastaların genotip dağılımları

Genotip	Saptanan mutasyonlar	Hasta sayısı (n)	Yüzde (%)
Homozigot (n: 58)	M694V- M694	49	25
	M680I- M680I	4	2
	V726A- V726A	4	2
	R761H- R761H	1	0,5
Birleşik heterozigot (n: 70)	M694V- V726A	23	12
	M694V- M680I	20	10
	M694V- R761H	8	4
	M694V- E148Q	5	2,5
	M694V- M694I	1	0,5
	M694V- P369S	1	0,5
	M680I- V726A	6	3
	M680I- R761H	3	1,5
	E148Q- P369S	2	1
	E148Q- V726A	1	0,5
Kompleks genotip (n: 2)	M694V- V726A- E148Q	1	0,5
	M680I- M680I- V726A	1	0,5
Heterozigot (n: 52)	M694V	24	12
	M680I	10	5
	V726A	9	4,5
	E148Q	6	3
	R761H	3	1,5
Normal		15	8
Toplam		197	100

4.2. Hipotez Testleri

Cinsiyete göre mutasyon sıklığı karşılaştırıldığında kızlarda mutasyon görülme oranı %35,2 iken erkeklerde bu oran %23,5 olarak tespit edildi. Aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Ki-kare= 3,95, p= 0,047) (Tablo 13).

Tablo 13. Cinsiyete göre MEFV mutasyon varlığı

Cinsiyet		Mutasyon yok	Mutasyon var	Total
Erkek	Sayı (n)	124	38	162
	Yüzde (%)	76,5	23,5	100,0
Kız	Sayı (n)	57	31	88
	Yüzde (%)	64,8	35,2	100,0
Total	Sayı (n)	181	69	250
	Yüzde (%)	72,4	27,6	100,0

Yaygın ve şiddetli kas ağrısı şikayeti olanların %26,8'inde, kas ağrısı şikayeti olmayanların da %27,8'inde mutasyon tespit edildi. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi (p= 0,877) (Tablo 14).

Tablo 14. Yaygın ve şiddetli kas ağrısı yakınması ve MEFV gen mutasyonu varlığı

Yaygın ve şiddetli kas ağrısı yakınması	Mutasyon	Yok	Var	Total
Yok	Sayı (n)	140	54	194
	Yüzde (%)	72,2	27,8	100,0
Var	Sayı (n)	30	11	41
	Yüzde (%)	73,2	26,8	100,0
Total	Sayı (n)	181	69	250
	Yüzde (%)	72,4	27,6	100,0

Ateşin eşlik ettiği şiddetli karın ağrısı şikayetleri sorgulandığında 41 kişide (%16,4) mevcut olduğu görüldü. Ateşli karın ağrısı yakınması ile mutasyon varlığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmadı (p=0,90) (Tablo 15)

Tablo 15. Ateşin de eşlik ettiği karın ağrısı şikayetleri ve MEFV mutasyon varlığı

Ateşin eşlik ettiği karın ağrısı şikayeti	Mutasyon	Yok	Var	Total
Yok	Sayı (n)	151	58	209
	Yüzde (%)	72,2	27,8	100,0
Var	Sayı (n)	41	15	56
	Yüzde (%)	73,2	26,8	100,0
Total	Sayı (n)	181	69	250
	Yüzde (%)	72,4	27,6	100,0

Ailesinde AAA hastalığı olanların %46,7'sinde, olmayanların da %26,5'unda mutasyon tespit edildi. Bu karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,13$) (Tablo 16).

Tablo 16. Katılımcıların ailesinde AAA hastalığı bulunması ve MEFV mutasyon ilişkisi

Ailesinde AAA hastalığı	Mutasyon	Yok	Var	Total
Yok	Sayı (n)	172	62	234
	Yüzde (%)	73,5	26,5	100,0
Var	Sayı (n)	8	7	15
	Yüzde (%)	53,3	46,7	100,0
Total	Sayı (n)	180	69	249
	Yüzde (%)	72,3	27,7	100,0

Pediyatrik Nefroloji Polikliniği'nde takibedilen AAA tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerde tespit edilen mutasyon dağılımlarına bakıldığında, sağlıklı grupta en sık tespit edilen (%25) E148Q mutasyonu iken, hastalarda en sık (%49) M694V mutasyonu bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo 17. AAA'den etkilenenler ve sağlıklı adölesanlarda tespit edilen mutant allel dağılımı

Mutant allel	AAA hastalarında n (%)	Sağlıklılarda n (%)
M694V	181 (45,9)	20 (4)
E148Q	15 (3,8)	25 (5)
V726A	49 (12,4)	9 (1,8)
M680I	49 (12,4)	7 (1,4)
A744S	0 (0)	7 (1,4)
R761H	16 (4)	4 (0,8)
P369S	3 (0,8)	3 (0,6)
R202Q	0	2 (0,4)
K695R	0	2 (0,4)
M694I	1 (0,2)	0
Normal allel	80 (20,5)	421 (84,2)
Toplam allel	394 (100)	500 (100)

Sağlıklı ve AAA hastası olan iki grup mutant allel sıklığı açısından karşılaştırılmıştır. Hasta grupta mutant allel sıklığı M694V için hastalarda %45,9 iken sağlıklı grupta %4 olarak bulunmuştur. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,005$) (Ki kare=246,7). M680I ve V726A mutasyonları da AAA hastalarında daha fazla bulunmuştur ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,005$ ve $p < 0,005$) (Ki kare= 50, 5 ve Ki kare= 45, 7). E 148Q için allel frekansı hasta grubunda %3,8 iken, sağlıklılarda %5 oranında bulunmuştur. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0, 544$) (Ki kare: 0,369). Göreceli orantı (Odds Ratio) hesaplaması ile tahmini rölatif risk AAA hastası olanlarda sağlıklı gruba göre M694V mutant gen taşıma olasılığı 23,8 kat, M680I mutant gen taşıma olasılığı 10,9 kat, V726A mutant gen taşıma olasılığı 8,4 kat fazla bulunmuştur. E148 Q mutant allel sıklığı arasındaki fark ise iki grup arasında anlamlı bulunmamıştır (Tablo 18).

Tablo 18. AAA hastaları ve çalışmamıza katılan sağlıklılarda allel sıklığı ve iki grubun karşılaştırılması

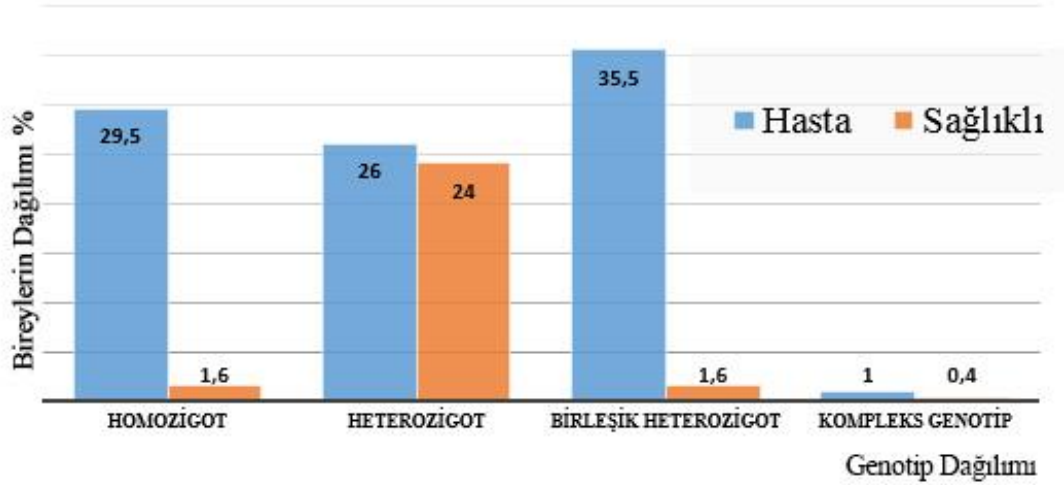
Mutasyon	Hastalar*				Sağlıklılar**				P	OR	Range
	Mutant allel		Mutant olmayan allel		Mutant allel		Mutant olmayan allel				
	n	%	n	%	n	%	n	%			
M694V	181	45,9	183	50,5	20	4	481	96	0,000	23,8	14,4-38,4
E148Q	15	3,8	351	96	25	5	476	95	0,544	0,81	0,42-1,57
M680I	49	12,4	317	87	7	1,4	494	98,6	0,000	0,9	4,9-24,3
V726A	49	12,4	317	86,6	9	1,8	492	98,2	0,000	8,4	4,1-17,5
A744S	0	0	366	100	7	1,4	494	98,6			
R761H	16	4	350	95,7	4	0,8	497	99,2			
P369S	3	0,8	363	99,2	3	0,6	498	99,4			
R202Q	0	0	366	100	2	0,4	499	99,6			
K695R	0	0	366	100	2	0,4	499	99,6			

* Toplam allel sayısı: 394 ** Toplam allel sayısı: 500

AAA hastalarının ve çalışmamızda incelenen sağlıklı grubun genotip dağılımlarına göre değerlendirilmesinde homozigot genotipe sahip kişilerin oranı hastalarda %32, sağlıklılarda %1,6 olarak bulunmuştur. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,005$) (Ki kare=70,2). Birleşik heterozigot olma oranlarının sağlıklılara göre yüksek olduğu ikisi arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,005$), heterozigot genotipe sahip kişi oranları arasındaki fark ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,005$) (Tablo 27).

Tablo 19. AAA hastaları ve çalışmamıza katılan sağlıklıların genotip dağılımlarına göre karşılaştırılması

Genotip		Hastalar		Sağlıklılar		P değeri
		n	%	n	%	
Homozigot	var	58	% 29,4	4	% 1,6	<0,005
	yok	139	% 70,6	246	% 98,4	
Birleşik heterozigot	var	70	% 35,5	4	% 1,6	<0,005
	yok	127	% 64,5	246	% 98,4	
Kompleks genotip	var	2	% 1	1	% 0,4	>0,005
	yok	195	% 99	249	% 99,6	
Heterozigot	var	52	% 26	60	% 24	>0,005
	yok	145	% 74	190	% 76	



Şekil 9. Çalışmamıza katılan sağlıklı grup ve AAA hastalarının genotip dağılımlarının karşılaştırılması

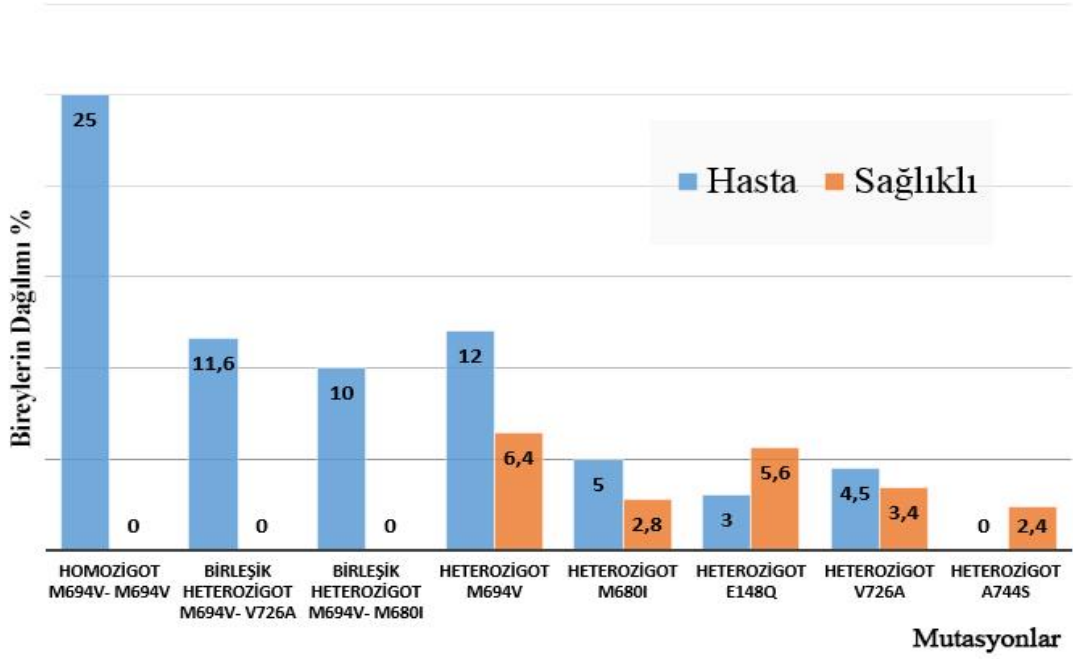
MEFV mutasyonlarının toplam 197 AAA hastası ile toplam 250 kişilik sağlıklı grup arasındaki dağılımları Tablo 20’de görülmektedir. Burada M694V heterozigot olma durumunun her iki grup arasında birbirine yakın olduğu; M694V homozigot mutasyonunun hastalarda çok yüksek (%27) orandayken sağlıklılarda tespit edilmemiş

olması; M694V birleşik heterozigot olması durumunun da hastalarda oldukça yüksek orandayken sağlıklılarda daha düşük oranda olduğu görülmektedir.

Tablo 20. MEFV mutasyonlarının AAA hastaları ve sağlıklı kişilerdeki dağılımı

Genotip		Hastaların sayısı (n:197)	Sağlıklı sayısı (n: 250)
Heterozigot	M694V/ -	24 (%12)	16 (%6,4)
	E148Q/ -	6 (%3)	14 (%5,6)
	V726V/ -	9 (%4,5)	8 (%3,4)
	M680I/ -	10 (%5)	7 (%2,8)
	A744S/ -	0 (%0)	6 (%2,4)
	Diğer	3 (%1,5)	9 (%3,6)
	Toplam	52 (%26)	60 (%24)
Homozigot	M694V/ 694V	49 (%25)	0 (%0)
	M680I/ M680I	4 (%2)	0 (%0)
	V726A/ V726A	4 (%2)	0 (%0)
	R761H/ R761H	1 (%0,5)	0 (%0)
	E148Q/ E148Q	0 (%0)	4 (%1,6)
	Toplam	58 (%29,5)	4 (%1,6)
Birleşik heterozigot	M694V- V726A	23 (%11,6)	0 (%0)
	M694V- M680I	20 (%10)	0 (%0)
	M694V- R761H	8 (%4)	1 (%0,4)
	M694V- E148Q	5 (%2,5)	1 (%0,4)
	M694V- A744S	0 (%0)	1 (%0,4)
	M694V- R202Q	0 (%0)	1 (%0,4)
	M680I- V726A	6 (%3)	0 (%0)
	Diğer	8 (%4)	0 (%0)
	Toplam	70 (%35)	4 (%1,6)
Kompleks genotip		2 (%1)	1 (%0,4)
Normal		15 (%8)	181
Toplam		197 (%100)	250 (%100)

Dikkati çeken diğerk bir durum ise sağlıklı grupta E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişi sayısı yüksek (%5,6) olduğu halde hastalar arasındaki E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişilerin sayısı daha düşük oranda (%3) olmasdır. Ancak iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 10).



Şekil 10. Çalışmamıza katılan sağlıklılarda ve AAA tanılı hastalarda saptanan mutasyonların karşılaştırılması

4.3. Tanısal Doğrulama Ölçütleri

Erzurum'da sağlıklı bireylerde gerçekleştirdiğimiz mevcut çalışmada kullandığımız genetik testin tanısal yeterliliğini değerlendirmek için gerekli ölçütler kullanıldı (111). Gold standart tanı yöntemi olarak Livhen ve ark. (59) önerdiği AAA tanı kriterleri alındı (Tablo 21).

Tablo 21. Kullanılan genetik tarama testinin tanısal yeterliliğin değerlendirilmesi

Referans test →	Klinik tanı pozitif (+)	Klinik tanı negatif (-)	Toplam
Mutasyon var (+)	1 (GP)	68 (YP)	69
Mutasyon yok (-)	0 (YN)	181 (GN)	181
Toplam	1	250	250
GP: Gerçek pozitif	YP: Yalancı pozitif		
GN: Gerçek negatif	YN: Yalancı negatif		

Tanısal duyarlılık (Sensitivite): Aranılan hastalığın hastada bulunması durumunda test sonucunun pozitif olma olasılığı: $(GP / GP + YN) \times 100$. Mevcut çalışmamızda klinik kriterlere göre tanı koyduğumuz 1 hastada birleşik heterozigot genotipinde mutasyon saptanmıştır. Bu durumda GP (gerçek pozitif: 1), YN (yalancı negatif: 0) olduğundan testin sensitivitesi %100 olarak saptanmaktadır.

Tanısal özgüllük (Spesitivite): Aranılan hastalığın hastada bulunmaması durumunda test sonucunun negatif olma olasılığıdır. $(GN / GN + YP) \times 100 = \%72$ olarak sonuçlanmıştır.

Pozitif prediktif değer: Tarama testinin sağlık problemlisi olarak bulunduğu gerçekten sağlık problemlisi olanların yüzdesidir. $(GP / GP + YP) \times 100 = \%1,44$

Negatif prediktif değer: Testin sağlıklı olarak bulunduğu bireyler içinde gerçekten sağlıklı olanların yüzdesidir. $(GN / YN + GN) \times 100 = \%100$ olarak bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Son 15 yıldır AAA hastalığı mekanizmalarının anlaşılmasındaki ilerlemelere rağmen; tanı halen klinik kriterlere dayanmaktadır (112). MEFV geninin belirlenmesi AAA'in tanısı için moleküler çalışmalara olanak sağlamıştır. Ancak bu durum moleküler tanı açısından fazla tatminkar değildir. Çünkü klinik olarak kesin AAA olan hastaların MEFV gen mutasyonları bakımından sadece %70'i homozigot veya birleşik heterozigottur. Bununla birlikte bazı etkilenmemiş bireylerde iki allele de mutasyon vardır. Tespit edilmiş olan mutasyonların gerçekten hastalığa sebep olan mutasyonlar olup olmadığı açık değildir. Tipik vakalardaki beş temel mutasyon hastaların yaklaşık %74'ünde rastlanmaktadır. Bu mutasyonlar sırasıyla; M694V, V726A, M680I, M694I (Ekzon 10) ve E148Q (Ekzon 2) olarak bildirilmiştir (13, 38).

Mutasyon analizi özellikle atipik durumlarda klinik tabloya yardım eden bir araçtır. En az bir MEFV mutasyonu olanlar genellikle asemptomatik taşıyıcılardır. Öte yandan iki mutasyon taşıyanlarda da hastalık belirtileri görülmeyebilir. Bununla birlikte tek bir MEFV mutasyonu tespit edilenlerde klasik AAA tablosu oluşabilir (11, 112). Kogan ve ark.'larının (113) İsrail'de yaptıkları bir çalışmada çift mutasyonlu asemptomatik bireylerin sayısının AAA hastalarının sayısından daha fazla olduğu gösterilmiştir. AAA'nin fenotipik değişkenliğinde etkili olan faktörler: kompleks genotip, genetik heterojenite, çevresel faktörler ve modifiye genlerin varlığı (114- 117) nedeniyle bu hastalığın fenotip- genotip korelasyonunu anlayabilmek daha da güç hale gelmektedir. Buna ek olarak MEFV genindeki mutasyonların AAA dışı hastalıklarda da etkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte bazı popülasyonlarda MEFV taşıyıcılık oranının 1/3 kadar yüksek olması AAA hastalığının az tanındığını düşündürmektedir. Toplumdaki taşıyıcıların ve hangi tip mutasyonları taşıdığının belirlenmesi klinik ve genetik özellikler arasındaki ilişkinin anlaşılmasına ve böylece hastanın teşhis, kolşisin tedavisi ve prognozu açısından erken tanınmasına olanak sağlayacaktır (38).

Literatürde Türk Toplumunda MEFV gen mutasyonu taşıyıcılık sıklığını belirlemek amacıyla çok sayıda kişide yapılmış bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle Türk Toplumunda MEFV mutasyon taşıyıcılık sıklığını belirlemek amacıyla böyle bir

çalışmayı yaparak literatüre katkı sağlamayı amaçladık. Mutasyon taramaları maliyetli, emek ve zaman isteyen çalışmalardır. Kısıtlı imkanlarımıza karşın bölgemizde küçük de olsa bir grup sağlıklı bireyde bu çalışmayı gerçekleştirdik.

Çalışmaya alınan bireylerin yaş ortalaması 16,6 (+- 0,9) olarak hesaplandı. AAA hastalığı klinik olarak %90 oranında 20 yaşından önce belirti verdiği için, mümkün olan en ileri yaştaki örnekleri çalışmaya almak ve böylece klinik AAA hastalığının ortaya çıkma ihtimalini azaltmak amacıyla özellikle lise öğrencileri seçilmiştir. Türk FMF Çalışma Grubu tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada 2838 vakanın değerlendirilmesi ile AAA hastalığının başlangıç yaşı ortalama 9,6, tanı alma yaşı ise 16,4 olarak bildirilmiştir (18, 28). Çalışmaya katılanların memleketlerine göre dağılımları incelendiğinde %90'ının Erzurumlu olduğu görülmüştür. Bu durum çalışma grubumuzun Doğu Anadolu Bölgesi'ne ait MEFV mutasyon taşıyıcılık oranını ve sağlıklılarda gen polimorfizmini yansıttığını göstermektedir.

Mutasyon taranmasında farklı tekniklerin kullanılması nedeniyle MEFV mutasyonu ile ilgili serilerin karşılaştırılması güç hale gelmektedir (38). Mutasyonların tarama ve saptanması amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin kendi içinde hassasiyet, çalışma süresi ve maliyet açısından avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (103). MEFV mutasyonu tespitinde kullanılan yöntemlerden biri olan Real Time (eş zamanlı) PCR'da mutant gen (hastalıklı gen) ile normal geni cihaz aynı zamanda çalışıyor (104). Gen ekspresyonunda hassas, verimli, hızlı ve daha üretken olması tercih edilmesinin sebebidir (118). FMF Strip Assay yönteminin yaygın MEFV mutasyonlarının tespiti için hızlı, kolay uygulanabilir ve güvenilir bir tarama yöntemi olduğu ifade edilmekle birlikte aynı çalışmada daha kapsamlı bir teknik (örneğin, DNA dizi analizi) ile kombinasyon halinde kullanılması durumunda, çok daha etkili bir genotipleme yapılabildiği vurgulanmıştır (119). Bir başka kaynakta (104) Striple Mutasyon Analizi'nin güvenilirliği az olan bir test olduğu ve terk edilme aşamasında olduğu belirtilmektedir. Sanger DNA dizi analizi yöntemi enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir (108). DNA dizi analizi mutasyon taramasında altın standart olarak kabul edilen hassasiyeti oldukça yüksek bir yöntemdir (103). Bizim çalışmamızda Sanger DNA dizi analizi yöntemi kullanılmıştır.

AAA tanısı olmayan sağlıklı bireylerde mutasyon taşıyıcılığı ve mutasyon dağılımı ile ilgili olarak literatüre baktığımızda hem Türk Toplumunda hem de diğer etnik gruplarda sağlıklı bireylerde yapılmış sınırlı sayıda çalışma olduğunu gördük (3, 32, 35, 120- 125).

Türk Toplumunda yapılmış çalışmaların mevcut çalışma sonuçlarımızla karşılaştırılması Tablo 22'de gösterilmiştir.

Yılmaz ve ark. (32) 2001 yılında Türk Toplumunda taşıyıcılık oranını ve AAA tanılı hastalarda mutasyon frekansını belirlemek amacıyla 450 erişkin AAA hastası ve 100 erişkin sağlıklı bireyde en sık rastlanan MEFV mutasyonlarını (M694V, M680I, E148Q, V726A, M694I) araştırmıştır. Bu çalışmada Türk Toplumunda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonu taşıyıcılık oranı %20 (1/ 5) olarak bildirilmiştir. Sağlıklı bireylerde saptanan mutasyonların allel frekanları karşılaştırılmış ve en sık bulunan mutasyonun E148Q olduğu belirtilmiştir. Sırasıyla bu sık görülen 5 mutasyonun frekansı E148Q 12/200, M694V 6/200, M680I 5/200, V726A 2/200, M694I 0/200 olarak hesaplanmış ve 100 sağlıklı bireyden sadece 1 kişide birleşik heterozigot (V726A/ E148Q) mutasyon olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon taşıyıcılık oranının %27,6 (1/ 3,6) saptanmıştır. Benzer şekilde en sık MEFV mutasyon E148Q olarak tespit edilmiştir. Sıklık sırasına göre E148Q 25/500, M694V 20/500, V726A 9/500, A744S 7/500, M680I 7/500, R761H 4/500, P369S 3/500, R202Q 2/500, K695R 2/500 şeklindedir (Tablo 29). Çalışma grubumuzda 250 sağlıklı bireyde 4 homozigot (E148Q/ E148Q), 4 birleşik heterozigot (E148Q/ M694V, A744S/ M694V, M694V/ R761H, R202Q/ M694V), 1 kompleks genotip (E148Q/ E148Q/ V726A) saptadık. Bizim tespit ettiğimiz taşıyıcılık oranı daha yüksek bulunmuştur. Saptamış olduğumuz genotip sayısının ve diğer nadir görülen mutasyon sayısının daha fazla olduğu görülmektedir. Her iki çalışmanın farklı bölgelerde ve farklı moleküler tekniklerle yapılmış olması bu duruma yol açmış olabilir.

Samsun bölgesinde 2007 yılında yapılan bir çalışmada (120) taşıyıcılık oranlarını belirlemede 3 farklı moleküler yöntem kullanılmıştır. Çalışmaya toplam 890 kişi (625 hasta, 165 şüpheli, 100 sağlıklı) alınmış ve sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon taşıyıcılık oranı ARMS metodu ile bakıldığında %27 (1/ 3,7), PCR- RFLP

yöntemi ile %7 (1/ 14,2), FMF Strip Assay yöntemi ile de %27 (1/ 3,7) olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Sanger DNA dizi analizi yöntemi ile sağlıklı bireylerde %27,6 (1/ 3,6) taşıyıcılık oranı bulunmuş olup; ARMS ve FMF Strip Assay yöntemi ile yapılan çalışmalarla benzer sonuçlanmıştır.

Tablo 22. Türk Toplumunda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon frekansları

ARAŞTIRMA	MUTASYONLAR											Taşıyıcılık oranı (%)
	E148Q	M694V	V726A	M680I	A744S	R761H	P369S	R202Q	K695R	M694I	Allel sıklığı	
Yılmaz ve ark.(32) (Ankara) (n: 100)	12/200	3/200	2/200	5/200	VY	VY	VY	VY	VY	0/200	22/200	20/100
Etem ve ark. (122) (Elazığ) (n: 103)	13/206	6/206	2/206	VY	VY	VY	1/206	VY	VY	2/206	23/206	23,3/100
Turgut ve ark. (121) (Kocaeli) (n:100)	15/200	6/200	3/200	1/200	0/200	0/200	1/200	VY	1/200	0/200	27/200	26/ 100
Çalışmamız (n: 250) (Erzurum)	25/500	20/500	7/500	7/500	7/500	4/500	3/500	2/500	2/500	0/500	79/500	27,6/ 100

VY: Veri yok

Turgut ve ark.'nın (121) Kocaeli'de MEFV genindeki mutasyonların sıklığı ve genotip- fenotip ilişkisini değerlendirmek amacıyla erişkin yaş grubunda yaptıkları çalışmalarında 100 AAA hastası ve 100 sağlıklı bireyin (yaş ortalaması $30,6 \pm 7,1$) sonuçları değerlendirilmiştir. Mutasyonların ters hibridizasyon yöntemi ile (FMF StripAssay, Viennalab Labordiagnostika GmbH) araştırıldığı bu çalışmada sağlıklı kişilerde MEFV mutasyon taşıyıcılık oranı %26 olarak rapor edilmiş ve en sık rastlanan mutasyon E148Q mutasyonu olmuş ve 14 (%14) kişide (E148Q/ -) tespit edilmiştir. 5 (%5) kişide M694V mutasyonu (M694V/-), 3(%3) kişide V726A mutasyonu (V726A/-), 1 (%1) kişide M680I G/C mutasyonu (M680I (G/C)/ -), 1 (%1) kişide K695R mutasyonu (K695R/-), 1 (%1) kişide P369S mutasyonu (P369S/-), 1 (%1) kişide birleşik mutasyon (compound heterozigot) tespit edilmiştir (E148Q/M694V). Kendi çalışmamızla kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Burada dikkati çeken A744S, R761H, R202Q mutasyonlarının bulunmaması ve bizim tespit ettiğimiz 4 homozigot, 4 birleşik heterozigot, bir kompleks genotip mutasyonlara karşın burada sadece bir birleşik heterozigot mutasyon bulunmasıdır. Bunun nedeni çalışmada kullanılan moleküler tekniğin, bireylerin yaş ortalamalarının ve çalışmaların yapıldığı coğrafik bölgelerin arasındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Etem ve ark. (122) tarafından Elazığ'da yapılmış olan bir çalışmada sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon taşıyıcılık sıklığı %23,3 olarak rapor edilmiştir. Çalışmaya 415 klinik olarak AAA tanısı almış hastalar ile 103 sağlıklı birey dahil edilmiş ve en sık rastlanan 12 MEFV mutasyonu ters hibridizasyon tekniği ile taranmış. Sağlıklılarda tespit edilen mutasyonlar E148Q (%12,6), M694V (%5,8), M694I (%1,9), V726A (%1,9), P369S (%0,9) olarak bildirilmiştir. Bizim tespit ettiğimiz sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonu taşıyıcılık oranı %27,6, en sık bulunan mutasyon aynı şekilde E148Q olmuştur.

Türk Toplumunu dışında AAA hastalığının ve MEFV gen mutasyonu taşıyıcılık oranının fazla olduğu bir diğer etnik grup Yahudiler'dir. Literatürde Kuzey Afrika, Askenazi, Irak Yahudileri'nde tespit edilen taşıyıcılık oranlarını bildiren çalışmalar mevcuttur (3, 33, 123) (Tablo 23).

İsrail Tel Aviv Üniversitesi'nden 2000 yılında yayınlanan, Stoffman ve ark. (33) tarafından 400 sağlıklı birey ile yapılan çalışmaya 4 farklı Yahudi grubu alınmış. M694V (%29), V726A (%0,9), M680I (%2), E148Q (%53) mutasyonları tespit edilmiş ve genel taşıyıcılık oranları: Kuzey Afrika Yahudileri'nde %22, Irak Yahudileri'nde %39, Askenazi Yahudileri %21, İran Yahudileri'nde ise %6 şeklinde de bildirilmiştir. Biz de Türkler'de MEFV mutasyonu taşıyıcılık oranının %27,6 olduğunu bulduk. Aynı şekilde en sık tespit edilen mutasyon E148Q olmuştur.

Ruth Gershoni-Baruch ve ark. (3) 2001 yılında İsrail'de yaptıkları çalışma sonucunda farklı etnik gruplardan elde ettikleri sonuçları bildirmişlerdir. AAA prevalans, penetrans ve genetik yatkınlığı araştırmak amacıyla 146 AAA tanılı hasta ve 1137 sağlıklı bireyde MEFV mutasyonlarına bakılmış. Çalışmada mevcut olan tüm etnik gruplarda taşıyıcılık sıklığı %10-13 olarak rapor edilmiştir. Sağlıklı grupta en sık bulunan mutasyon E148Q olmuştur. Genel taşıyıcılık oranları Askenazi Yahudileri'nde 1/ 4,5, Moroccan (Kuzey Afrika) için 1/ 4,7, Irak Yahudileri'nde 1/3,5, Müslüman Araplar'da 1/ 4,3 olarak rapor edilmiştir. Bu oranlar hesaplanırken nadir bulunan mutasyonlar göz ardı edilmiş. V726 mutasyonu Askenazi (%7,4), Irak Yahudisi (%12,8), Müslüman Araplar'da %7,3 olarak bulunurken Moroccan Yahudileri'nde saptanmamıştır. Öte yandan M694V mutasyonu Moroccan (%11,1), Irak Yahudisi (%2,9), Müslüman Araplar'da (%0,6) mevcutken Askenazi Yahudileri'nde M694V mutasyonuna rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise M694V allel frekansı %4, V726A allel frekansı %1,8, genel taşıyıcılık oranı ise 1/ 3,6 olarak saptanmıştır. V726A mutasyonunun Türk Toplumunda Yahudiler'e oranla daha az sıklıkta olduğu görülmektedir. Farklı Yahudi grupları arasında yapılmış olan bu çalışmada sağlıklı bireylerde V726A ve E148Q mutasyonları hastalara göre daha sık tespit edilmiş; düşük penetrans ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

Tablo 23. Yahudiler ve mevcut çalışmamıza katılan sağlıklılarda tespit edilen MEFV mutasyon dağılımı ve genel taşıyıcılık oranları

Çalışma	Etnik gruplar	M694V	V726A	M680I	E148Q	Taşıyıcılık oranlar
Stoffman Ve ark. (33)	K.Afrika Yahudileri (n: 200)	16/ 200	2/ 200	0/200	10/200	22/ 100
	Irak Yahudileri (n: 200)	11/ 200	10/200	0/ 200	23/200	39/ 100
	Askenazi Yahudiler (n: 200)	1/200	4/200	1/200	15/200	21/100
	İran Yahudileri (n: 200)	1/200	0/200	0/200	15/200	6/ 100
Gershoni- Baruch ve ark. (3)	Moroccan Yahudil. (n: 486)	27/486	0/ 362	0/ 286	11/200	21,2/100
	Irak Yahudileri (n: 410)	6/ 410	28/374	0/132	14/200	28,5/100
	Askenazi Yahudil. (n: 814)	0/814	30/808	0/158	27/362	22,2/100
	Müslüman Araplar (n: 636)	2/634	24/632	8/626	13/198	23,2/100
Kogan ve ark.* (113)	Moroccan Yahudil. (n: 120)	16/120	0/120	VY	9/120	21/100
	Irak Yahudileri (n: 101)	2/101	12/101	VY	16/101	29/100
	Askenazi Yahudil. (n: 300)	TE	27/300	VY	14/300	14/100
Mevcut çalışmamız**	Türkler (n: 250)	20/500	9/500	7/500	25/500	27,6/100

* Kogan ve ark. yaptığı çalışmada Irak Yahudileri'nde 2 V726 hom., 2 E148Q hom. mutasyon, Askenazi Yahudileri'nde 1 E148Q hom. mutasyon tespit edilmiştir.

**Bizim çalışmamızda 4 E148Q hom., 4 birleşik het., 1 kompleks genotip saptanmıştır. Diğer daha nadir mutasyonlar burada mevcut değildir.

TE: Test edilmedi. VY: Veri yok.

Kogan ve ark. (113) kendisinde veya ailesinde AAA öyküsü olmayan farklı etnik gruptan 521 Yahudi'de (300 Askenazi Yahudisi, 101 Irak Yahudisi, 120 Moroccan Yahudileri'nde) MEFV gen mutasyonlarını araştırmışlar. MEFV mutasyon taşıyıcılık oranları Askenazi Yahudileri'nde 1/ 7,3, Moroccan (Kuzey Afrika) Yahudileri'nde 1/ 4,8, Irak Yahudileri'nde 1/ 3 olarak bulunmuştur. Erzurum'da belirlediğimiz taşıyıcılık oranı 1/ 3,6 olup; Irak Yahudileri'nin taşıyıcılık oranı ile benzerlik göstermektedir.

Ürdün'de yapılan bir çalışmada (34) Arap Popülasyonu'nda AAA mutasyon sıklığı ve taşıyıcılık oranları araştırılmış. Kendi ülkeleri ile birlikte 4 ayrı Arap Ülkesi'nden toplam 939 sağlıklı adölesan (231 Mısırlı, 225 Suriyeli, 176 Iraklı, 107 Suudi Arabistanlı) alışmaya katılmış. Araplar'da MEFV mutasyonu için genel taşıyıcılık oranı %18,4 (1/ 5,4) olarak bildirilmiştir. Sağlıklı adölesanlarda en yaygın mutasyon olarak E148Q (%43) tespit edilmiştir. Bunun dışında M694V (%24,5), V726A (%26,5), M694I (%4), M680I (%2) ile birlikte nadir olan M680I (G-A), A744S ve R761H mutasyonları saptanmıştır. Çalışmamızla benzer şekilde sağlıklılarda en sık görölen mutasyon E148Q olmuştur; ancak MEFV mutasyon taşıyıcılığı ise Araplarda Türklere göre daha düşük oranda tespit edilmiştir.

Suriye toplumunda klinik tanı almış 83 AAA hasta ile 242 sağlıklı bireylerin katıldığı çalışmada; MEFV mutasyon taşıyıcılık oranı 1/5,7 olarak bildirilmiştir (123). Bu alışmada E148Q sağlıklı bireylerde en sık saptanan mutasyon olarak görölmüştür. Gen mutasyonlarının belirlenmesinde DNA dizi analizi yönteminin kullanıldığı belirtilmiştir.

Arap Popülasyonuna göre Doğu Anadolu'da yaşayan Türklere'i yansıtan çalışma grubumuzun sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonu genel taşıyıcılık oranları karşılaştırıldığında birbirine yakın sonuçlar elde edildiği ve tüm gruplarda en sık tespit edilen mutasyonun E148Q olduğu görölmektedir (Tablo 24).

Tablo 24. Araplar ve bizim çalışmamıza katılan sağlıklılarda saptanan MEFV allel frekansları ve genel taşıyıcılık oranları

Çalışma	Etnik gruplar	M694V (%)	E148Q (%)	V726A (%)	M694I (%)	M680I (%)	Taşıyıcılık oranlar
Al- Alami Ve ark. (34)	Suudi'ler (n: 107)	0/ 214 (0)	12/214 (5,6)	1/214 (0,4)	0/214 (0)	0/214 (0)	11,4/ 100 (1: 8,7)
	Mısırlı'lar (n: 231)	4/ 462 (0,8)	29/462 (6,2)	8/462 (1,7)	4/462 (0,8)	0/462 (0)	16,9/ 100 (1: 5,9)
	Ürdünlü'ler (n: 200)	13/400 (3,2)	23/400 (5,7)	14/400 (3,5)	2/400 (0,5)	1/400 (0,2)	23/100 (1: 4,3)
	Iraklı'lar (n: 176)	0/352 (0)	29/352 (8,2)	9/352 (2,5)	0/352 (0)	0/352 (0)	19,3/ 100 (1: 5,1)
	Suriyeli'ler (n: 225)	6/450 (1,3)	30/450 (6,6)	5/450 (1,1)	0/450 (0)	1/450 (0,2)	16,9/ 100 (1: 5,9)
H. Mattit ve ark. (123)	Suriyeli (n: 242)	4/484 (0,8)	32/484 (6,6)	11/484 (2,2)	0/484 (0)	0/484 (0)	17,5/100 (1/ 5,7)
Bizim çalışmamız	Türkler (n: 250)	20/500 (4)	25/500 (5)	9/500 (1,8)	0/500 (0)	7/500 (1,4)	27,6/100 (1/ 3,6)

MEFV gen mutasyonu ve AAA'nin sık görüldüğü diğer etnik grup Ermeniler'dir. Sarkisian ve ark. (31) Ermenistan'da yaşayan 3000 AAA hastası ve 250 asemptomatik bireylerin incelendiği çalışmalarında 7 yaygın MEFV mutasyonlarını araştırmışlar. Sağlıklılarda genel taşıyıcılık oranı %21 (1/5) olarak bildirilmiştir. Sağlıklı ve hasta bireylerdeki mutasyonların farklı olmasının penetroan mutasyonun tipine bağlı olduğu vurgulanmıştır. Çalışma sonucunda AAA hastalarının çocuklarına genetik tarama yapılması önerilmiştir.

Fragouli ve ark. (124) Giritliler'de MEFV mutasyon taşıyıcılık oranını %6 (1/17) olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada da 71 AAA hastası ve 158 kişilik sağlıklı grup genotip- fenotip korelasyon açısından karşılaştırılmış. Hastalarda en sık tespit edilen ve en çok penetroan olan mutasyonun M694V olduğu vurgulanmış ve sağlıklılarda en fazla tespit edilen mutasyon E148Q olmuştur. Giaglis ve ark. (125) Yunanlı 152 AAA hastası ve 140 sağlıklı kişilerin genetik analizi sonucunda Yunanlılar'da taşıyıcılık oranını

%0,7 olarak bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımızla mukayese edildiğinde Akdeniz Havzası'nın doğudan ziyade batısına daha yakın yerleşik olan bu iki popülasyonda Türk Toplumuna göre daha düşük oranda taşıyıcılık oranı tespit edilmiştir.

Mutasyon taşıyıcılarının klinik bakımdan önemi, toplumda sağlıklı bireylerde mutasyon taşıyıcılığının belirlenmesi yanında hangi mutasyonları taşıdıklarına da bağlıdır. Örneğin hastalığa yol açması tartışmalı olan E148Q mutasyonunun hastalık yapıcı bir mutasyondan ziyade bir dizi varyantı olduğu konusunda çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada E148Q nun bir mutasyondan ziyade polimorfizm olduğu fikri öne sürülmüş ancak kanıtlanamamıştır (126). Naumishin ve ark. (127) kuantum kimyası tabanlı model kullanarak pirin proteini üzerindeki E148Q mutasyonunun yapısal etkisinin gerçekten düşük olduğunu göstermişlerdir. Aksentijevich ve ark. (128) Askenazi Yahudileri'nde E148Q taşıyıcılık oranı çok yüksek olduğu halde bu toplumda AAA hastalığının az olduğu ve hastalardan sadece birinde homozigot E148Q olduğunu bildirmiştir. "E148Q mutasyonunun hastalık yaratan bir mutasyon mu yoksa bir dizi varyantı mı?" konulu diğer bir çalışmada araştırmacılar gözlemleri sonucunda E148Q'nun hastalığa neden olan bir mutasyon olmadığını bildirmişlerdir (129). AAA hastalarında E148Q allelinin dağılımını değerlendirmek için yapılan bir başka çalışmada pedigr analizi sonucunda AAA genetik heterojenitesi vurgulanarak E148Q'nun benign polimorfizm olması durumunun dikkate alınarak yanlış pozitif tanı olasılığını azaltmak gerektiği bildirilmiştir (130). Çalışmamız sonucunda da sağlıklılarda en sık saptanan mutasyonun E148Q olması ve dört E148Q homozigot taşıyıcısında AAA klinik bulgularının olmaması E148Q'nun benign polimorfizm olması durumunu desteklemektedir.

Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatri Nefroloji Polikliniği tarafından takip edilmekte olan AAA tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerde tespit edilen mutasyon dağılımlarına bakıldığında, sağlıklı grupta en sık tespit edilen (%25) E148Q mutasyonu iken, hastalarda en sık (%45,9) M694V mutasyonu olduğu bulunmuştur. Sağlıklı ve AAA hastası olan iki grup mutant allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında M694V, V726A, M680I mutasyonuna uğramış allel sıklığı hastalarda sağlıklılara göre yüksek görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. E148Q için allel frekansı hasta grubunda

%3,8 iken, sağlıklılarda %5 oranında bulunmuştur. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Göreceli orantı (Odds Ratio) hesaplaması ile tahmini rölatif risk AAA hastası olanlarda sağlıklı gruba göre M694V mutant gen taşıma olasılığı 23,8 kat, M680I mutant gen taşıma olasılığı 10,9 kat, V726A mutant gen taşıma olasılığı 8, 4 kat fazla bulunmuştur. E148Q mutant allel sıklığı arasındaki fark ise iki grup arasında anlamlı bulunmamıştır. Turgut ve ark. (121) çalışmalarında göreceli orantı (Odds Ratio) hesaplaması ile M694V mutant gen taşıma olasılığı kontrol grubundan 38,7 kat, M680I (G/C) mutant gen taşıma olasılığı kontrol grubundan 20,89 kat, V726A mutant gen taşıma olasılığı kontrol grubundan 6,49 kat fazla bulunmuştur. Her iki grup arasındaki E148Q mutasyonu içeren allel sayısı farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Burada çalışma sonuçlarının mevcut çalışma sonuçlarımız ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Hastanemizde takibedilen AAA hastalarında en sık saptanan genotip M694V/M694V (homozigot) (%25) olmuştur. Diğer sık görülen genotipler sırasıyla M694V/- ve M694/ diğer (birleşik heterozigot) şeklinde tespit edilmiştir. Hastalar ve sağlıklı grubun genotip dağılımlarının değerlendirilmesinde hastalarda homozigot ve birleşik heterozigot genotipe sahip kişilerin oranı sağlıklılardaki oranlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Heterozigot genotipe sahip kişi oranları arasındaki fark ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

M694V heterozigot olma durumunun hasta ve sağlıklı grup arasında birbirine yakın olduğu; M694V homozigot mutasyonunun hastalarda çok yüksek (%27) orandayken sağlıklılarda tespit edilmemiş olması; M694V birleşik heterozigot olması durumunun da hastalarda oldukça yüksek orandayken sağlıklılarda daha düşük oranda olduğu görülmektedir. Tespit ettiğimiz diğer bir durum ise sağlıklı grupta E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişi sayısı yüksek (%5,6) olduğu halde hastalar arasındaki E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişilerin sayısı daha düşük oranda (%3) olmasıdır. Ancak iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Yapmış olduğumuz inceleme sonucunda elde ettiğimiz sonuçlarla kullandığımız testin (MEFV mutasyon taraması) tanısal yeterliliğin belirlenmesi için kullanılan tanısal

doğruluk ölçütleri hesaplandı. Mevcut çalışmamızda MEFV mutasyon taramasının AAA hastalığı için duyarlılığı (sensitivitesi) %100, özgüllüğü (spesivitesi) %72, pozitif prediktif değeri: %1,44, negatif prediktif değeri ise %100 olarak hesaplanmıştır. Duyarlılık ve özgüllük bir testin teknik özellikleridir. Teknik özellikler ortamdan ortama değişmez. Birinci basamak, ikinci basamak ve üçüncü basamak ortamlarda uygulansa da testin duyarlılık ve özgüllüğü aynıdır, değişmez. Bununla birlikte klinik açıdan hastalığın incelenen toplumlardaki yaygınlığı (prevelansı) çok önemlidir. Yaygınlık arttıkça testin pozitif tanı koydurma değeri (PPD, pozitif prediktif değer) de artar. Klinisyenler için önemli olan testin pozitif prediktif değeridir. Çalışmamızda incelenen ortamda (birinci basamak şartları) testin PPD'sinin %1,44 çıkması bu testin aile hekimleri (birinci basamak) açısından tanı değerinin düşük olduğunu gösterir. Bununla birlikte üçüncü basamakta bir çocuk polikliniğinde hastalığın prevelansı daha yüksek olacağından testin tanı değeri muhtemeldir ki daha yüksek olacaktır. Bu konuda üçüncü basamak sağlık merkezi gibi prevelansın yüksek olacağı ortamlarda yapılacak çalışmalar testin yeterliliğini değerlendirmek için yarar sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan 250 kişiden 69'unda (%27,6) MEFV geninde mutasyon tespit edildi. Doğu Anadolu Bölgesi'nde MEFV taşıyıcılık sıklığı 1/ 3,6 olarak bulundu. Bu oran Türkler'de ve diğer etnik gruplarda daha önce yapılmış olan çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu görüldü.

2. Sağlıklı bireylerde en sık E148Q mutasyonu saptanmıştır. İkinci sıklıkta M694V mutasyonu tespit edilmiştir. Diğerleri sıklık sırasına göre V726A, A744S, M680I, R761H, P369S, R202Q, K695R mutasyonlarıdır. Toplam 9 farklı mutasyon tespit edilmiştir.

3. Çalışmamız sonucunda da sağlıklılarda en sık saptanan mutasyonun E148Q olması ve dört E148Q homozigot taşıyıcısında AAA klinik bulgularının olmaması E148Q'nun benign polimorfizm olması durumunu desteklemektedir.

4. Sağlıklı adölesanların genotip dağılımları incelendiğinde 30 kişide heterozigot genotip (%24), 4 kişide homozigot (%1,6), 4 kişide birleşik heterozigot (%1,6), 1 kişide ise kompleks genotip (%0,4) tespit edildi. Bu durum birleşik heterozigot, homozigot, kompleks genotip mutasyon taşıyıcılarının asemptomatik olabildiğini göstermektedir. Bu genotiplere sahip olan bireyler AAA gelişebilme ihtimaline karşın yakın takibe alındılar.

5. Çalışma grubumuz ve peidatrik nefroloji polikliniğinde takipli hastaların taşıdığı mutasyonlar karşılaştırıldı ve M694V, M680I, V726A mutasyonu bulunan allel sıklığı AAA hastalarında sağlıklılara göre yüksek ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p= 0,000). Göreceli orantı (Odds Ratio) hesaplaması ile tahmini rölatif risk AAA hastası olanlarda sağlıklı gruba göre M694V mutant gen taşıma olasılığı 23,8 kat, M680I mutant gen taşıma olasılığı 10,9 kat, V726A mutant gen taşıma olasılığı 8,4 kat fazla bulunmuştur. E148Q mutasyonu bulunan allel frekansı açısından bakıldığında her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunmamıştır. Bu durum E148Q mutasyonunun hastalık yapıcı mutasyondan ziyade benign polimorfizm olduğunu desteklemektedir.

6. Hastalar ve sağlıklı grubumuzun genotip dağılımlarının değerlendirilmesinde hastalarda homozigot ve birleşik heterozigot genotipe sahip kişilerin oranı sağlıklılardaki oranlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Heterozigot genotipe sahip kişi oranları arasındaki fark ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum da hastalığın otozomal resesif kalıtım patterniyle uyumludur.

7. M694V heterozigot olma durumunun hasta ve sağlıklı grup arasında birbirine yakın olduğu; M694V homozigot mutasyonunun hastalarda çok yüksek (%25) orandayken sağlıklılarda tespit edilmemiş olması; M694V birleşik heterozigot olması durumunun da hastalarda oldukça yüksek orandayken sağlıklılarda daha düşük oranda olduğu görülmektedir. Tespit ettiğimiz diğer bir durum ise sağlıklı grupta E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişi sayısı yüksek (%5,6) olduğu halde hastalar arasındaki E148Q heterozigot mutasyonu taşıyan kişilerin sayısının daha düşük oranda (%3) olmasıdır. Ancak iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

8. Mevcut çalışmamızda MEFV mutasyon taramasının AAA hastalığı için duyarlılığı (sensitivitesi) %100, özgüllüğü (spesivitesi) %72, pozitif prediktif değeri: %1,44, negatif prediktif değeri ise %100 olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda incelenen ortamda (birinci basamak şartları) testin PPD (pozitif prediktif değer)'inin %1,44 çıkması bu testin aile hekimleri (birinci basamak) açısından tanı değerinin düşük olduğunu gösterir. Bununla birlikte üçüncü basamakta bir çocuk polikliniğinde hastalığın prevalansı daha yüksek olacağından bu testin tanı değeri muhtemeldir ki daha yüksek olacaktır. Bu konuda üçüncü basamak sağlık merkezi gibi prevalansın yüksek olacağı ortamlarda yapılacak çalışmalar mutasyon tarama testinin yeterliliğini değerlendirmek için yarar sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Manna R, Cerguaglia C, Curigliano V, et al. Clinical features of familial Mediterranean fever: an Italian overview. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2009;13 Suppl 1 (1): 51- 3.
2. Grateau G. Clinical and genetic aspects of the hereditary periodic fever syndromes. *Rheumatology.* 2004; 43 (4): 410- 5.
3. Gershoni-Baruch R, Shinawi M, Leah K, et al. Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9 (8): 364- 7
4. Drenth JP, van der Meer JW. Hereditary periodic fever. *N Engl J Med.* 2001; 345 (24): 1748- 57.
5. International FMF Consortium: Ancient missense mutations in a new member of the RoRetgene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell.* 1997; 90 (4): 797- 807.
6. The French FMF Consortium: A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet.* 1997; 17(1): 25-31.
7. Shoham NG, Centola M, Mansfield E, et al. Pyrin binds the PSTPIP1/ CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100 (23): 13501- 6.
8. Yu JW, Fernandes- Alnemri T, Datta P, et al. Pyrin activates the ASC pyroptosome in response to engagement by autoinflammatory PSTPIP1 mutants. *Mol Cell.* 2007; 28 (2): 214- 27.
9. Jarjour RA. Familial Mediterranean fever in Syrian patients: MEFV gene mutations and genotype- phenotype correlation. *Mol Biol Rep.* 2010; 37 (1): 1-5
10. Touitou I. Standardized testing for mutations in familial Mediterranean fever. *Clin Chem.* 2003; 49 (11): 1781- 2.
11. Olgun A, Akman S, Kurt I, et al. MEFV mutations in familial Mediterranean fever: association of M694V homozygosity with arthritis. *Rheumatol Int.* 2005; 25 (4): 255-9.
12. Koşan C. Ailevi Akdeniz Ateşine tanısal yaklaşım. *MJAU.* 2003; 35: 1-6.

13. Livneh A, Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in familial Mediterranean fever. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2000; 14 (3): 477-98.
14. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, et al. 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)*. 1998; 77 (4): 268- 97
15. Ben-Chetrit E, Touitou I. Familial Mediterranean Fever in the World. *Arthritis Rheum*. 2009; 61 (10): 1447- 53.
16. Bakkaloglu A. Familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol*. 2003; 18 (9): 853-9.
17. Ong FS, Vakil H, Xue Y, et al. The M694V mutation in Armenian- Americans: a 10-year retrospective study of MEFV mutation testing for familial Mediterranean fever at UCLA. *Clin Genet*. 2013; 84 (1): 55– 9.
18. Zadeh N, Getzug T, Grogy WW. Diagnosis and management of familial Mediterranean fever: Integrating medical genetics in a dedicated interdisciplinary clinic. *Genet Med*. 2011; 13 (3): 263- 9.
19. Soriano A, Manna R. Familial Mediterranean fever: new phenotypes. *Autoimmun Rev*. 2012; 12 (1): 31- 7.
20. Samli H, Dogru O, Bukulmez A, et al. Relationship of Tel Hashomer criteria and Mediterranean fever gene mutations in a cohort of Turkish familial Mediterranean fever patients. *Saudi Med J*. 2006; 27 (12): 1822- 6.
21. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med*. 1945 (1); 23:1-21.
22. Örün E, Yalçınkaya F. Türk tıbbında ailevi akdeniz ateşi hastalığı ve amiloidoz. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 2003; 12 (1): 1- 7.
23. Reimann HA. Periodic disease; a probable syndrome including periodic fever, benign paroxysmal peritonitis, cyclic neutropenia and intermittent arthralgia. *J Am Med Assoc*. 1948; 136 (4): 239- 44.
24. Mamou H, Cattan R. The periodic disease. *Sem Hop*. 1952; 28 (25): 1062- 70.
25. Heller H, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean fever. *AMA Arch Intern Med*. 1958; 102 (1): 50- 71.

26. Goldfinger SE. Colchicine for familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 1972;287 (25): 1302
27. Onen F. Familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int.* 2006; 26 (6): 489- 96.
28. Turkish FMF Study Group; Tunca M, Akar S, Onen F, et al. Familial Mediterranean fever FMF in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)*. 2005; 84 (1): 1- 11.
29. Shohat M, Halpern GJ. Familial Mediterranean fever- A review. *Genet Med.* 2011; 13 (6): 487- 98.
30. Daniels M, Shohat T, Brenner-Ullman A, Shohat M. Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non- Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel. *Am J Med Genet.* 1995;55 (3): 311– 4.
31. Sarkisian T, Ajrapetian H, Beglarian A, et al. Familial Mediterranean fever in Armenian population. *Georgian Med News.* 2008;156:105– 11.
32. Yilmaz E, Ozen S, Balci B, et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in Turkish population. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9 (7): 553- 5.
33. Stoffman N, Magal N, Shohat T, et al. Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever various Jewish ethnic groups. *European Journal of Human Genetics.* 2000; 8 (4), 307- 10.
34. Al-Alami JR, Tayeh MK, Najib DA, et al. Familial Mediterranean fever mutation frequencies and carrier rates among a mixed Arabic population. *Saudi Med J.* 2003; 24 (10): 1055- 9.
35. Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, et al. International study group for phenotype– genotype correlation in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2007; 56 (5): 1706- 12.
36. Ozen S, Aktay N, Lainka E, et al. Disease severity in children and adolescents with familial Mediterranean fever: a comparative study to explore environmental effects on a monogenic disease. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68 (2): 246- 8.
37. Haddad JJ. The role of inflammatory cytokines and NF-kB/ MAPK signaling pathways in the evolution of familial Mediterranean fever: Current clinical perspectives and potential therapeutic approaches. *Cellular immunology.* 2009; 260 (1): 6– 13.

38. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9 (7): 473- 83.
39. Milhavet F, Cuisset L, Hoffman HM, Slim R; et al. The infevers autoinflammatory mutation online registry: update with new genes and functions. *Hum Mutat.* 2008; 29 (6): 803- 8.
40. Zaks N, Shinar Y, Padeh S, et al. Analysis of the three most common MEFV mutations in 412 patients with familial Mediterranean fever. *Isr Med Assoc J.* 2003; 5(8): 585- 8.
41. Cattan D, Delpéch M. Fievre mediterraneenne familiale (maladie periodique). *Hepato-Gastro.* 1996; 3 (5): 369- 76.
42. Gershoni-Baruch R, Brik R, Shinawi M, Livneh A. The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet.* 2002; 10 (2):145-9.
43. Booth DR, Lachmann HJ, Gillmore JD, Booth SE, Hawkins PN. Prevalence and significance of the familial Mediterranean fever gene mutation encoding pyrin Q148. *QJM.* 2001; 94 (10): 527– 31.
44. Arısoy N. Ailevi Akdeniz ateşi: Dünya, ülkemiz ve çocuklar açısından konuya bakış. *Klinik Gelişim.* 1991; 4: 930- 5.
45. Simon Van Der Meer JWM, Drenth JPH: Ailesel Otoinflatuar Sendromlar in Kelley Romatoloji. Harris ED, Budd Jr RC, Firestein GS, Genovese MC, Sergent JS, Ruddy S, Sledge C eds. 7. Baskı. 2006; 1773-88 .
46. Abraham Gedalia. Familial Mediterranean Fever in The Nelson Textbook of pediatrics. Kliegman RM, Stanton BF, Joseph W St Geme III, Schor NF, Behrman RE eds. 19 th edition. Philadelphia 2011; 856- 7.
47. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* September. 2004; 567 (1): 1- 61.
48. Kirkali G, Tunca M, Genc S, Jaruga P, Dizdaroglu M. Oxidative DNA damage in polymorphonuclear leukocytes of patients with familial Mediterranean fever. *Free Radic Biol Med.* 2008; 44 (3): 386- 93.
49. Kosan C, Cayir A, Turan MI, Ustebay S. Paraoxonase 1 and arylesterase levels in children with familial mediterranean fever. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2013; 17 (3): 375- 8.

50. Colak B, Gurlek B, Yegin Z.A, et al. The relationship between the MEFV genotype, clinical features, and cytokine- inflammatory activities in patients with familial Mediterranean fever. *Ren Fail.* 2008; 30 (2): 187– 91.
51. Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yazici H. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis.* 2002; 61 (1): 79– 81.
52. Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1a and NF- κ B redox sensitivity. Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells. *J Biol Chem.* 2000; 275 (28): 21130- 9.
53. Hayashi A, Suzuki T, Shimizu A, Yamamura Y. Letter: Periodic fever suppressed by reserpine. *Lancet.* 1976; 1 (7959): 592.
54. Barakat MH, El-Khawad AO, Gumaa KA, et al. Metaraminol provocative test: A specific diagnostic test for Familial Mediterranean fever. *Lancet.* 1984; 1(8378): 656- 7.
55. Koné Paut I, Dubuc M, Sportouch J, Minodier P, Garnier JM, Touitou I. Phenotype-genotype correlation in 91 patients with Familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features. *Rheumatology (Oxford).* 2000; 39 (11): 1275– 9.
56. Gedalia A, Adar A, Gorodischer R. Familial Mediterranean fever in children. *J Rheumatol Suppl.* 1992; 35:1-9.
57. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet.* 1998; 351 (9103): 659- 64.
58. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Migdal A, Sohar E. The changing face of familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum.* 1996; 26 (3): 612- 27.
59. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1997; 40 (10):1879- 85.
60. Claudia Fonnesu. Familial Mediterranean fever: A review for clinical management *Joint Bone Spine.* 2009; 76 (3): 227- 33.
61. Tunca M, Akar S, Onen F, et al. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore).* 2005; 84 (1): 1– 11.
62. Lidar M, Livneh A. Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med.* 2007; 65 (9): 318- 24.

63. Salai M, Zemmer D, Segal E, et al. Chronic massive knee effusion in familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum.* 1997; 27(3): 169- 72.
64. Heller H, Gafni J, Michaeli D, et al. The arthritis of familial Mediterranean fever (FMF). *Arthritis Rheum.* 1966; 9 (1): 1-17.
65. Sneh E, Pras M, Michaeli D, et al. Protracted arthritis in familial Mediterranean fever. *Rheumatol Rehabil.* 1977; 16 (2): 102- 6.
66. Langevitz P, Livneh A, Zemer D, Shemer J, Pras M. Seronegative spondyloarthropathy in familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum.* 1997; 27 (2): 67-72.
67. Lidar M, Kedem R, Mor A, Levartovsky D, Langevitz P, Livneh A. Arthritis as the sole episodic manifestation of familialMediterranean fever. *J Rheumatol.* 2005; 32 (5): 859- 62.
68. 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 (1): 88- 97.
69. Zimand S, Tauber T, Hegesch T, Aladjem M. Familial Mediterranean fever presenting with massive cardiac tamponade. *Clin Exp Rheumatol.* 1994; 12 (1): 67- 9.
70. Kees S, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Pras M, Livneh A. Pericarditis as a rare manifestation of familial Mediterranean fever (FMF) in Familial Mediterranean Fever. Sohar E, Gafni J, Pras M, eds. Tel Aviv: Freund Publishing House. 1997; 129- 31.
71. Aydın F, Özçelik C, Akpolat I, Turanlı AY, Akpolat T. Erysipelas-like erythema with familial Mediterranean fever. *J Dermatol.* 2011; 38 (5): 513- 5.
72. Langevitz P, Zemer D, Livneh A, Shemer J, Pras M. Protracted febrile myalgia in patients with familial Mediterranean fever. *J Rheumatol.* 1994; 21 (9): 1708- 9.
73. Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and revvieved of the literatüre. *Am J Med.* 1967;43 (2): 227- 53.
74. Touitou I, Ben-Chetrit E, Nortarnicola C, et al. Familial Mediterranean fever, clinical and genetic features in Druzes and in Iraqi Jews: A preliminary study. *J Rheumatol.* 1998; 25 (5): 916- 9.

75. Eshel G, Zemer D, Bar-Yochai A. Acute orchitis in familial Mediterranean fever. *Ann Intern Med.* 1988; 109 (2): 164- 5.
76. Lineh A, Madgar I, Langeviz P, Zemer D. Recurrent episodes of acute scrotum with ischemic testicular necrosis in a patient with familial Mediterranean fever. *J Urol.* 1994; 151 (2): 431- 2 .
77. Kasapçopur Ö, Arısoy N. Ailesel Akdeniz Ateşi ve diğer Otoenflamatuvar Hastalıklar. *Türk Pediatri Arşivi.* 2006; 41: 9- 17.
78. Özdoğan H, Kasapçopur Ö. Ailesel Akdeniz Ateşi. *Dirim* 2006; 81 (2): 197- 205.
79. Özdoğan H, Arısoy N, Kasapçopur O, et al. Vasculitis in Familial Mediteranean Fever. *J Rheumatol.* 1997; 24 (2): 323- 7.
80. Flatau E, Kohn D, Schiller D, et al. Schönlein- Henoch syndrome in patients with FMF. *Arthritis Rheum.* 1982; 25 (1): 42- 47.
81. Savi M, Asinari G, Gaudio V, et al. Unusual immunologic findings in familial Mediterranean fever. *Arch Intern Med.* 1978; 138 (4): 644- 5.
82. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behcet's disease. *N Engl J Med.* 1999; 341 (17): 1284- 91.
83. Said R, Hamzeh Y, Said S, Tarawneh M, Al-Khateb M. Spectrum of renal involvement in Familial Mediterranean. *Kidney Int* 1992; 412: 414-8.
84. Gedelia A, Zamir S. Neurologic manifestation of familial Mediterranean fever. *Pediatr Neurol.* 1993; 9 (4): 301- 2.
85. Gökalp HZ, Başkaya MK, Aydın V. Pseudotumor cerebri and familial Mediterranean fever. *Clin Neurol Neurosurg.* 1992; 94 (3): 261- 63.
86. Lossos A, Eliashiv S, Ben-Chetrit E, Reches A. Optic neuritis associated with familial Mediterranean fever. *J Clin Neuroophthalmol.* 1993; 13 (2): 141- 3.
87. Ehr enfeld M, Brzezinski A, Levy M, Eloakim M. Fertility and obstetric history in patients with familial Mediterranean fever on long term colchicine therapy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1987; 94 (12): 1186-91.
88. Camus D, Shinar Y, Aamar S, Langevitz P, Ben-Zvi I, Livneh A, et al. 'Silent' carriage of two familial Mediterranean fever gene mutations in large families with only a single identified patient. *Clin Genet.* 2012; 82 (3): 288-91.
89. Saatci U, Bakkaloglu A, Ozen S, Besbas N. Familial Mediterranean fever and amyloidosis in children. *Acta Paediatr .* 1993; 82 (8): 705- 6.

90. Bilginer Y, Akpolat T, Ozen S. Renal amyloidosis in children. *Pediatr Nephrol* 2011; 26 (8): 1215– 27.
91. Woo P, Robson M, O'Brien J, et al. A genetic marker for systemic amyloidosis in juvenile arthritis. *Lancet*. 1987; 2 (8562): 767- 9.
92. Alpaslan Altunoğlu. Phenotype 2 Familial Mediterranean Fever: Evaluation of 22 Case Series and Review of the Literature on Phenotype 2 FMF. *Renal Failure*. 2013; 35 (2): 226– 30.
93. Fietta P. Autoinflammatory diseases: the Hereditary periodic fever syndromes. *Acta Bio. Medica. Ateneo Parmense*. 2004; 75 (2): 92- 9.
94. 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 Eng J Med*. 1986; 314 (16):1001- 5.
95. 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 (6): 504- 9.
96. Yalcinkaya F, Ozen S, Ozcakar ZB, et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford)*. 2009; 48 (4): 395- 8.
97. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, et al. Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Eng J Med*. 1992; 326 (23): 1509- 13.
98. Mor A, Shinar Y, Zaks N, et al. Evaluation of disease severity in familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum*. 2005; 35 (1): 57-64.
99. Picco P, Ceccherini I, Martini A. The Inherited Periodic Fever Syndromes. *Ital J Pediatr*. 2002; 28: 285-91.
100. Özen S, Uçkan D, Baskın E, et al. Apoptosis in Familial Mediterranean Fever. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18: 277.
101. Kallinich T, Haffner D, Niehues T, et al. Colchicine Use in Children and Adolescents with Familial Mediterranean Fever: Literature Review and Consensus Statement. *Pediatrics* 2007; 119 (2): 474- 83.

102. 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 (4): 420- 6.
103. Sümer H. Nokta mutasyonlarının saptanmasında yüksek çözünürlüklü erime tekniğinin verim ve hassasiyetinin değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi. Ankara-2008.
104. Arslan T. Genetik Tetkiklerin Faturalandırılması Sorunları ve Çözüm Önerileri. *Sosyal Güvenlik Dünyası*. 2011; 72.
105. Doğan Demir A. Çocukluk çağı Ailevi Akdeniz Ateşi hastalarında klinik ve epidemiyolojik özelliklerin belirlenmesi ve bu özelliklerle sık görülen mutasyonlar arasındaki ilişkilerin araştırılması. Uzmanlık tezi. İstanbul- 2007.
106. Zülal A. İnsan Genomu, kalıtım şifresinin peşinde 136 yıl. *Tübitak Yayınları*. 2001; 5- 11.
107. Maxam A, Gibert W. A new method of sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977; 74 (2): 560- 4.
108. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977; 74 (12): 5463-7.
109. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning, a laboratory manual*. New York: Cold spring harbor laboratory Press. 1989.
110. Klug SW, Cummings WR, *Concept of Genetics*, Prentice Hall, New Jersey. 2000; 45.
111. Köseoğlu MH. Laboratuarda tanısal yeterlilik. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
112. Berkun Y, Eisenstein EM. Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever *Autoimmun Rev*. 2014; 13 (4): 388- 90.
113. Kogan A, Shinar Y, Lidar M, et al. Common MEFV Mutations Among Jewish Ethnic Groups in Israel: High Frequency of Carrier and Phenotype III States and Absence of a Perceptible Biological Advantage for the Carrier State. *American Journal of Medical Genetics*. 2001; 102 (3): 272- 6.

114. Berkun Y, Karban A, Padeh S, Pras E, Shinar Y, Lidar M, Livneh A, Bujanover Y. NOD2/CARD15 gene mutations in patients with familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum.* 2012; 42 (1): 84- 8
115. Touitou I, Picot MC, Domingo C, et al. The MICA region determines the first modifier locus in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2001; 44 (1): 163- 9.
116. Marek-Yagel D, Berkun Y, Padeh S, et al. Role of the R92Q TNFRSF1A mutation in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2010; 62 (9): 1294- 8.
117. Gershoni-Baruch R, Brik R, Zacks N, Shinawi M, Lidar M, Livneh A. The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2003; 48 (4):1149- 55.
118. Günel T. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.* 2007; 27 (5): 763- 7.
119. 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 (11):1948- 50.
120. Yigit S, Bagci H, Ozkaya O, et al. MEFV mutations in patients with familial mediterranean fever in the black sea region of Turkey Samsun experience. *J Rheumatol* 2008; 35 (1): 106- 13.
121. Turgut T. Ailevi Akdeniz Ateşi olan hastalarda MEFV genindeki mutasyonların sıklığı ve genotip- fenotip ilişkisi. *Uzmanlık Tezi. Kocaeli- 2009.*
122. Etem E. Familial Mediterranean Fever: A Retrospective Clinical and Molecular Study in the East of Anatolia Region of Turkey. *Open Rheumatol J.* 2010; 4 (23): 1- 6.
123. Mattit H, Joma M, Al- Cheikh S, et al. Familial Mediterranean fever in the Syrian population: gene mutation frequencies, carrier rates and phenotype- genotype correlation. *European Journal of Human Genetics.* 2006; 49 (6): 481- 6.
124. Fragouli E, Eliopoulos E, Petraki E, et al. Familial Mediterranean fever in Crete: a genetic and structural biological approach in a population of ‘intermediate risk’. *C Genetics.* 2008; 73 (2): 152- 9.

125. Giaglis S, Papadopoulos V, Kambas K, et al. MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever. *Clin Genet.* 2007; 71 (5): 458- 67.
126. Marek-Yagel D, Bar- Joseph I, Pras E, Berkun Y. E148Q a benign polymorphism or a disease- causing mutation? *J Rheumatol.* 2009; 36 (10): 2372.
127. Naimushin A, Lidar M , Ben Zvi I , Livneh A. The structural effect of the E148Q MEFV mutation on the pyrin protein: a study using a quantum chemistry model. *Isr Med Assoc J.* 2011;13(4):199-201.
128. Aksentijevich I, Torosyan Y, Samuels J, et al. Mutation and haplotype studies of familial Mediterranean fever reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(4): 949-62.
129. Ben-Chetrit E, Lerer I, Malamud E, et al. The E148Q mutation in the MEFV gene: is it a disease- causing mutation or a sequence variant? *Hum Mutat.* 2000;15 (4): 385- 6.
130. Tchernitchko DO, Gerard- Blanluet M, Legendre M, et al. Intrafamilial segregation analysis of the p.E148Q MEFV allele in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65 (9): 1154- 7.

EKLER

EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)

Araştırmanın Adı: "Erzurum İl Merkezi'nde yaşayan semptomsuz adölesanlarda Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) gen polimorfizminin araştırılması"

Araştırmanın Konusu: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Türkler, Araplar, Ermeniler ve Yahudiler gibi Akdeniz çevresinde yaşayan ırklarda görülen, ülkemizde de bölgesel dağılım gösteren ve genetik olarak geçen bir hastalıktır. Hastalığın en sık bulguları ateşli karın ağrısı ataklarıdır. Bölgemizde sık görülen, sinsiyeyreden ve farkedilmeyip tanısında gecikme olduğunda dokularda amiloid (bir çeşit protein) birikimine yol açan ve ileride bu nedenle böbrek yetmezliği gibi ciddi sorunlara sebep olabilen bir hastalıktır.

Araştırmanın Amacı: Bu çalışmada, Erzurum İl merkezinde bulunan farklı okulların lise 3. Sınıflarında bulunan, Ailevi Akdeniz Hastalığı semptomları olmayan 16-18 yaş arası kız ve erkek çocuklarda genetik araştırma yapılarak bölgemizde sık görülen AAA (Ailevi Akdeniz Ateşi) Hastalığı'nın taşıyıcılık sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmanın Süresi: 6 ay

Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı: 250

Araştırmada İzlenecek Yöntem: Sağlıklı çocuklarda AAA gen mutasyonu taşıyıcılık sıklığını araştırmak üzere yapmak istediğimiz genetik araştırmaya katılmaya sizi davet ediyoruz. Araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde çocuğunuzdan 2 mililitre kan örneği alınacaktır. Yukarıda bahsedildiği gibi böbrek yetmezliği gibi ciddi sorunlara sebep olabilen bu hastalığa yönelik mutasyon araştırılmasının yapılması çocuğunuzun yararına olacaktır. Ayrıca bu genetik analizler çok pahalı tetkikler olmasına rağmen araştırma fonundan ücretsiz yapılacaktır. Patolojik çıkan sonuçlar için ileri inceleme amacı ile sizinle irtibat kurulacaktır. Bu araştırma Atatürk Üniversitesi etik kurulu onayı ile Tıbbi Biyoloji Bölümünde yapılacaktır. Ayrıca, ekteki formda istenen bilgileride sağlamanızı rica ediyoruz. İsminiz ve bu bilgiler tamamen gizli

tutulacaktır. Çalışmaya katılmanız tamamen isteğe bağlıdır. Sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. İsteddiğiniz zaman çalışmaya katılmaktan vazgeçebilirsiniz. Bu durumda sizden almış olduğumuz örnek imha edilecektir. Yapmak istediğimiz araştırmanın size risk getirmesi söz konusu değildir. Kan aldırmanın genelde hiçbir zararı olmamasına karşın; nadiren ve çok az kanama ve morarmaya yol açabilir. Araştırma sonucunda aranan bilgi elde edildiği takdirde, ileri tetkik amacı ile size ulaşıp bilgi verilecektir. Genetik çalışmalarımızın kalıtsal hastalıkların temelini anlamamıza katkıda bulunarak insan sağlığına yarar sağlamasını beklemekteyiz. Bu formu imzalamadan önce, çalışmayla ilgili sorularınız varsa lütfen sorun. Daha sonra sorunuz olursa, 05056532325 numaralı telefonu arayıp sorabilirsiniz. Araştırmayla ilgili haklarınız konusunda yerel etik kurullarına da danışabilirsiniz.

Adres ve telefon numaranız değişirse, bize haber vermenizi rica ederiz.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilir Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Dr. Ayşen GÖK/ 05056532325

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

EK- 2

**ERZURUM İLİ MERKEZİ'NDE YAŞAYAN ADÖLESANLARDA AİLEVİ
AKDENİZ ATEŞİ (AAA) BULGULARINA YÖNELİK ANKET FORMU**

TARİH.....:
OKUL ADI :
SINIFI..... :

1. ADI.....:
2. SOYADI.....:
3. DOĞUM TARİHİ.....:
4. DOĞUM YERİ.....:
5. ADRES.....:
6. İRTİBAT TELEFONU:
7. MEMLEKETİ.....:
8. ŞU AN İÇİN ERZURUM'DA YAŞIYORSANIZ ASIL MEMLEKETİNİZ
NERESİDİR?
.....
9. CİNSİYETİ: K () E ()
10. Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF= Familial Mediterranean Fever) hastası mısınız?
EVET () HAYIR ()
11. Ateşli veya ateşsiz karın ağrısı atakları (nöbetleri= krizleri) geçiriyor musunuz ?
EVET () HAYIR ()
12. Daha önce tekrarlayıcı (ayda bir; onbeşgünde bir; haftada bir olan v.s.) karın
ağrısı ataklarınız (nöbetleriniz) oldu mu?
EVET () HAYIR ()
13. Yine aynı şekilde tekrarlayıcı göğüs ağrısı şikayetleriniz oldu mu?
EVET () HAYIR ()
14. Bugüne kadar dizlerinizde veya diğer eklemlerinizde şişlik, kızarıklık, ağrı, ısı
artışı gibi şikayetleriniz oldu mu?
EVET () HAYIR ()
15. Ayak bileklerinde ve ayaklarınızın sırtında sıcak, şiş ve kırmızı deri
döküntüleriniz oldu mu?

EVET () HAYIR ()

16.Yaygın, şiddetli kas ağrılarınız oldu mu?

EVET () HAYIR ()

17.Birinci derece akrabanızda AAA (Ailevi Akdeniz Ateşi) hastalığı var mı (Tekrarlayan ve kendiliğinden geçen karın , eklem, göğüs ağrısı ve ateş atakları)

EVET () HAYIR ()

18.Daha önce AAA (Ailevi Akdeniz Ateşi= FMF= Familial Mediterranean Fever) hastalığı şüphesi ile tetkik edildiniz mi?

EVET () HAYIR ()

19.Daha önce apandisit ameliyatı veya karın ağrısının nedeninin araştırılması amacıyla ameliyat geçirdiniz mi?

EVET () HAYIR ()

20.Anneniz ve babanız arasında akrabalık var mı? Varsa yakınlığı nedir?

EVET () HAYIR ()

amca çocukları ()

hala- dayı çocukları ()

teyze çocukları ()

diğer ()

21.Böbrek ile ilgili bir hastalığınız var mı?

EVET () HAYIR ()

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ERZURUM İLİ MERKEZİ'NDE YAŞAYAN SEMPTOMPSUZ
ADÖLESANLARDA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (AAA) GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ayşen GÖK

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 07.09.2009

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 24.04.2014

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 24.04.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Celalettin KOŞAN

Jüri üyesi : Prof. Dr. M. Cahit KARAKELLEOĞLU

Jüri üyesi : Prof. Dr. Celalettin KOŞAN

Jüri üyesi : Prof. Dr. Handan ALP

Jüri üyesi : Prof. Dr. Zerrin ORBAK

Jüri üyesi : Prof. Dr. Hüseyin TAN

Prof. Dr. Mehmet Cahit KARAKELLEOĞLU
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

NİSAN- 2014
ERZURUM