



**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA**  
**KASPAZ 3,KASPAZ 8,KASPAZ 9,GRANZİM-B**  
**VE APAF-1 DÜZEYLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**CANAN YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SİVAS-2017**

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA  
KASPAZ 3, KASPAZ 8, KASPAZ 9, GRANZİM-B VE APAF-1  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**CANAN YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA  
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. ÖZLEM DEMİRPENÇE**

**SİVAS-2017**

**“Ailevi Akdeniz Ateşi hastalarında Kaspaz 3,Kaspaz 8,Kaspaz 9, Apaf-1 ve Granzim-B Düzeylerinin Araştırılması”** adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye (Danışman) \_\_\_\_\_

ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 11.09.2014 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

## ÖZET

### FMF HASTALARINDA KASPAZ 3,KASPAZ 8,KASPAZ 9,GRANZİM-B VE APAF-1 DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Canan YILMAZ**

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özlem DEMİRPENÇE  
2017, 67 sayfa

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), tekrarlayan, yüksek ateş, peritonit, plevrit ve akut sinovit oluşumuna neden olan otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır. Bu hastalık, 16.kromozom üzerindeki MEFV geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu, hatalı protein sentezi oluşmasıyla, ortaya çıkmaktadır. AAA hastalığının patogenezinde apoptozun rolü olduğu düşünülmektedir. Apoptoz; organizmada özgün ve sıkı bir şekilde düzenlenen programlı hücre ölümüdür.

Bu çalışmada, AAA hastaları ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen serum örneklerinde, apoptoz patogenezinde rolü oynayabilen; Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim B ve Apaf 1 düzeyleri değerlendirilmiştir.

Çalışma grubuna 30 AAA (ortalama yaş: 37,83 ±19,41,12 erkek ve 18 kadın) hastası ve 30 sağlıklı kontrol(ortalama yaş: 31,13 ±10,57, 15 erkek ve 15 kadın) dahil edildi. Kontrol grubundaki bireylerle karşılaştırıldığında, AAA hastalarının serum Kaspaz 3 (P=0.111), Granzim B (P=0.304), Apaf 1 (P=0.097) ve Kaspaz 8 (P=0.245) düzeyleri istatistiksel olarak farklı değildi(p >0,05). Kaspaz 9 düzeyleri (P=0.001) yönünden iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05).

Bu çalışmada AAA hastalığı ile apoptoz arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. AAA hastalığı patogenezi açısından incelenirken; diğer laboratuvar verileri ile birlikte apoptoz biyobelirteçlerinin de değerlendirilmesinin önemli bir bilimsel katkı olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Ailevi Akdeniz Ateşi, Apoptoz, Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim B, Apaf 1

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF CASPASE 3, CASPASE 8, CASPASE 9, GRANZYME-B AND APAF-1 LEVELS IN FMF PATIENTS

**Canan YILMAZ**

Master Thesis, Department of Biochemistry

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Özlem DEMİRPEŒE

2017, 67 page

Familial Mediterranean Fever (FMF) is a hereditary, autosomal, recessive transitive disease, causing recurring fever, peritonitis, pleuritis and acute synovitis development. The disease develops by faulty protein synthesis as a result of the mutations of MEFV gene which is located on chromosome 16. Apoptosis is considered to play a role in the pathogenesis of FMF disease. Apoptosis is a process of programmed cell death that is specifically and tightly regulated in the organism.

In this study, the levels of Caspase 3, Caspase 8, Caspase 9, Granzyme B and Apaf 1, which may be involved in the pathogenesis of apoptosis, were analyzed in the serum samples obtained from FMF patients and the healthy control group.

30 FMF patients (mean age:  $37.83 \pm 19.41$  years, 12 male and 18 female) and 30 healthy control individuals (mean age:  $31.13 \pm 10.57$  years, 15 male and 15 female) were included in the study group. When compared with individuals in the control group, serum Caspase 3 ( $P=0,111$ ), Granzyme B ( $P=0,304$ ), Apaf 1 ( $P=0,097$ ) and Caspase 8 ( $P=0,245$ ) levels of FMF patients were not statistically different. In terms of Caspase 9 levels ( $P=0,001$ ), the inter-group difference was statistically significant ( $p<0,05$ ).

In this study, we aimed to investigate the correlation between the FMF disease and apoptosis. We think that, in the investigation of FMF disease in terms of its pathogenesis, apoptosis biomarkers should also be taken into consideration along with other laboratory data as an important scientific contribution.

**Key Words:** Familial Mediterranean Fever, Apoptosis, Caspase 3, Caspase 8, Caspase 9, Granzyme-B, Apaf-1

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sevtap BAKIR'a, danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Özlem DEMİRPENÇE'ye, Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Hande KÜÇÜK'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Deneylerime ve tezimin istatistik aşamalarına yardımcı olan Dr. Serpil ERŞAN'a ve tezimin hazırlık döneminde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, hiçbir emeğini esirgemeyen Araştırma Görevlisi Serkan KAPANCIK'a çok teşekkür ederim.

Numunelerin toplanmasında her türlü yardımı sağlayan, destek ve bilgilerinden yararlandığım, kendilerini tanımaktan onur ve mutluluk duyduğum, Romatoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Ali ŞAHİN ve her zaman bana samimi içtenliğini unutmayacağım eşi Mehtap Şahin'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Varlıklarını hayatta hiçbir şeye değişmeyeceğim, her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, beni ben yapan DEĞERLİ AİLEME sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
GRAFİKLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
KISALTMALAR/SİMGELER.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA).....	3
2.2. Tarihçe .....	3
2.3. Epidemiyoloji .....	4
2.4. Genetik .....	4
2.5. Patogenez.....	5
2.6. Apoptoz .....	9
2.6.1. Apoptozun Mekanizmaları.....	12
2.6.1.a. Ekstrinsik yol.....	13
2.6.1.b. İntrensenk Yol.....	14
2.6.1.c. Diğer Yollar.....	15
2.6.2. Kaspazlar.....	16
2.6.3.1. Kaspaz 3.....	18
2.6.3.2. Kaspaz 8.....	19
2.6.3.3. Kaspaz 9.....	20
2.6.3.4. Apaf-1 .....	21
2.6.3.5. Granzim B .....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç.....	23
3.1.1. Kullanılan Gereçler .....	23
3.2. Yöntem .....	23



3.2.1. Hasta ve Kontrol Grubu .....	23
3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması.....	23
3.2.3. Apaf-1 Tayini .....	24
3.2.4. Kaspaz-3 Tayini .....	25
3.2.5. Kaspaz-8 Tayini .....	26
3.2.6. Kaspaz-9 Tayini .....	27
3.2.7. GRANZİM-B Tayini.....	28
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	29
5. ARAŞTIRMANIN ETİK YÖNÜ .....	30
6. BULGULAR.....	31
7. TARTIŞMA .....	33
8. KAYNAKLAR .....	37
EKLER.....	49
Ek 1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu .....	49
Ek 2: Bilgilendirmiş Olur Formu .....	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Apoptoz mekanizmaları .....	16
Şekil 2.2: Kaspazlar .....	18



## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 3.1:</b> Apaf-1 standart eğri grafiği.....	24
<b>Grafik 3.2:</b> Kaspaz-3 standart eğri grafiği.....	25
<b>Grafik 3.3:</b> Kaspaz-8 standart eğri grafiği.....	26
<b>Grafik 3.4:</b> Kaspaz-9 standart eğri grafiği.....	27
<b>Grafik 3.5:</b> Granzim-B standart eğri grafiği.....	28



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 6.1:</b> Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaş,Cinsiyet ve Sigara Alışkanlığına göre Değerlendirilmesi.....	31
<b>Çizelge 6.2:</b> Kontrol ve Hasta Gruplarının Parametrelerinin Değerlendirilmesi .....	32



## KISALTMALAR/SİMGELER

<b>AAA</b>	Ailevi Akdeniz Ateşi
<b>MEFV</b>	Pürin geni
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktör
<b>CSF</b>	Koloni uyarıcı faktörler
<b>NGF</b>	Nöron büyüme faktör
<b>IGF</b>	İnsülin benzeri büyüme faktör
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>CTLs</b>	Sitotoksik T lenfositler
<b>Granzim B</b>	Serin proteaz
<b>NM23-H1</b>	Metastaz ilişkili gen
<b>ICE</b>	Beta converting enzim
<b>CARD</b>	Caspase recruitment domain
<b>ICE</b>	IL-1-Converting Enzyme
<b>FADD</b>	Fas ilişkili ölüm bölgesi
<b>TRADD</b>	TNF-R1 ilişkili ölüm bölgesi
<b>DED</b>	Efektör ölüm bölgesi
<b>IL-2</b>	İnterleukin-2
<b>IL-6</b>	İnterleukin-6
<b>IL-10</b>	İnterleukin-10
<b>sIL-2R</b>	interlökin-2 reseptör
<b>AIF</b>	Apoptozis indükleyici faktör
<b>APAF 1</b>	Apoptotik proteaz aktifleştirici faktör – 1
<b>ICAD</b>	Deoksiribonükleaz inhibitörü
<b>PARP</b>	ADPriboz polimerazı
<b>C5a</b>	Kompleman 5a
<b>NF-κB</b>	Nükleer Faktör kappa B
<b>Endo-G</b>	Endonükleaz-G
<b>DRC</b>	Ölüm reseptör kompleksi

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) (Familial Mediterranean Fever, FMF) tekrarlayan yüksek ateş, peritonit, plevrit ve akut sinovit ile seyreden Doğu Akdeniz havzasında yaşayan bölge halklarında özellikle Türk, Yahudi ve Ermeni toplumlarında yaygın olarak görülen, otozomal resesif geçişli inflamatuvar genetik kökenli bir hastalıktır (1). Herhangi bir uyaran faktör olmaksızın ortaya çıkan inflamatuvar olaylar sonucu, tekrarlayan yangısal ataklara neden olan bir hastalıktır. Otoinflamatuvar hastalıkların temel komponenti; abdomen, muskuloskeletal sistem ve deriyi içeren fokal organ klinik inflamasyonunun aralıklı nöbetlerle karakterize edilen herediter periyodik ateşler grubudur. Hayat boyu devam eden tekrarlı inflamatuvar atakların dışında, bu sendromların hastada ki başlangıç yaşı, atakların sürekliliği, eşlik eden semptomlar, prognoz ve etnik köken gibi ayırıcı özellikleri vardır (2,3).

FMF 'den sorumlu gen MEFV (MEditerranean FeVer) 781 amino asitli bir protein olan pirin/marenostriini kodlayan, 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) bulunan, 10 ekson içeren büyük bir gendir. Pirin proteinin FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nötrofil aktivitesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol oynadığı belirtilmektedir (4,5)

67 milyondan fazla nüfusa sahip ülke olan Türkiye'de yaşayanlarda bu hastalık görülmektedir. Türklerde FMF'in görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5 gibi yüksek bir düzeydedir (4,5).

Programlanmış hücre ölümü olarak bilinen Apoptoz sağlıklı doku oluşumu ve gelişimi için gerekli fizyolojik bir mekanizmadır. Apoptozun metabolik olayların devamlılığı için gerekli olan yaşamsal sinyaller yerine komşu hücrelerden ölüm sinyali aldığı veya hücre hasarın yeterli şekilde tamir edilemediği durumlarda uyarıldığı ve bu mekanizmanın genler tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (6,7).

Apoptozun uyarılması ile genomik DNA'nın 50-200 kb parçalar halinde kırılması, proteinlerin parçalanması, fosfotidilserinin hücre zarı iç yüzeyinden dış yüzeyine çıkması gibi değişiklikler proteolitik sistem tarafından gerçekleştirilir. Bu sistem içinde proteaz ailesi olarak bilinen kaspazlar, aktif merkezlerinde sistein amino asiti içeren öncül enzim formunda bulunurlar. İçerdikleri sistein amino asiti sayesinde

substratlarına nükleofilik saldırılar yaparak, her aspartik asit kalıtımından sonraki peptit bağlarının parçalanmasına neden olurlar (8,9).

Bu alışmada, Tel-Hashomer kriterlerine göre FMF tanısı almış ancak tek kromozomunda mutasyon taşıyan, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi romatoloji kliniğinde izlenen 30 hasta dahil edilmiştir. Seçilen laboratuvar analiz yöntemi ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemidir.

FMF tanısı almış, hastaların serumlarında apoptoz biyobelirteçlerinden olan kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9'un seviyelerinin, hasta izlemine katkısı olması açısından araştırılması amaçlanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA)

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), tekrarlayan yüksek ateş, peritonit, plevrit ve akut sinovit oluşumuna neden olan genetik kökenli bir hastalıktır. Yaygın olarak doğu akdeniz bölgesinde yaşayan toplumlarda görülmekle birlikte Yunan, İtalyan, İspanyol ve Japon toplumlarında da seyrek olarak görülmektedir (10).

### 2.2. Tarihçe

Ailesel Akdeniz Ateşi semptomlarına ait ilk veriler 20. yüzyılın başlaması ile ortaya çıkmaya başlamıştır. İlk kez 1908 yılında iki hekim (Janeway ve Mosenthal) tarafından, yahudi olan genç bir hastada, ayda bir kez tekrarlayan karın ağrısı ile birlikte 40°C'ye bulan yüksek ateş varlığında lökositoz bildirilmiştir. Bu lökositoz durumu ilk olarak "An unusual paroksimal peritonitis" adı ile tanımlanmıştır (11). 20. yüzyılın ortalarına gelindiğinde, 1945 yılında "benign paroksimal peritonit" olarak tanımlanan 10 vakaya ait veriler yayımlanmıştır (12).

Ülkemizde bu hastalığa ait bulgular ilk olarak 1946 yılında 'Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu' adı altında bildirilmiştir (13). İlk başta "An unusual paroksimal peritonitis" olarak adlandırılan hastalık, ilerleyen yıllardaki vaka bildirimlerinde "Recurrent polyserositis" ya da "Recurrent hereditary polyserositis" gibi çeşitli adlar ile tanımlanmıştır (14). 1958 yılında Heller'in yayımladığı makalesinde, hastalık genellikle Doğu Akdeniz toplumlarında ortaya çıktığı için "Familial Mediterranean Fever" ismi ile tanımlanmıştır. Hastalık için yapılan bu tanımlama günümüzde de aynı şekilde devam etmektedir(15). 1992 yılında, klonlama tekniği ile akdeniz ateşi hastalığına ait genin (MEFV) 16. kromozomunda bulunduğu ortaya çıkarıldı (16). Orta büyüklüğe sahip olan akdeniz ateşi hastalığına ait gen (MEFV), 3505 nükleotit ve 10 exon bölgesine sahiptir (17). MEFV geni pirin adındaki 781 amino asitten oluşan proteini kodlamaktadır. Pirin proteini, lökositlerin en sık bulunan tipi olan nötrofillerde sentez edilmekte ve enflamasyon oluşumunda rol almaktadır (10).



### 2.3. Epidemiyoloji

Ailevi Akdeniz Ateşi, doğu akdeniz toplumlarında sıklıkla görülen ve dünya genelinde 100.000'den fazla kişiyi etkileyen otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır. Hastalığın yaygın olarak görüldüğü toplumlardan olan Türklerin 1/5'i, Yahudilerin 1/5'i ve Ermenilerin 1/7'si akdeniz ateşi hastalığı taşıyıcısıdır. Türk toplumunda 1000 bireyden 1'i bu hastalığa sahip iken, İsrail toplumunda bu sayı 700 bireyde 1'dir. Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığına, Yunan, İspanyol, İtalyan ve Japon toplumlarında da nadir olarak rastlanılmasına rağmen, Kuzey Avrupa, Afrika, Çin ve Hint toplumlarında rastlanılmamaktadır. Fakat 20. Yüzyılda yaşanan göçler nedeniyle hastalık akdeniz bölgesinin yanında dünya genelinde görülmeye başlamıştır (18,19).

Türkiye de ise hastalığın görülme sıklığı iç anadolu bölgesi ve doğu anadolu bölgesinde artmaktadır, özellikle aile kökenleri Sivas, Kayseri, Tokat, Malatya, Erzurum, Erzincan, Kars ve Ağrı'ya dayanan bireylerde hastalık daha sık olarak gözlenmektedir (20).

Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığının erkekler ve kadınlar arasındaki görülme sıklığı karşılaştırıldığında, erkeklerdeki oran kadınlara göre biraz fazlada olsa iki cinsiyette benzerdir (21).

Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığının semptomları erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Semptomların 1-10 yaş arası ortaya çıkma oranı %60 iken, 10-20 yaş arası oran ise %30 dur. Hastalığın başlama yaşı ortalama 5 olmasına rağmen hastaların semptomları önemsememesi veya ailevi akdeniz ateşi hastalığının ilk aşamada düşünülmemesi nedeniyle tanı 10 yıl kadar gecikmektedir (22).

### 2.4. Genetik

Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı, 16 kromozom üzerindeki MEFV geninde meydana gelen mutasyonların neden olduğu hatalı pirin proteinin sentezlenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır.

Hastalık ile MEFV geni arasındaki ilişki 1992 yılında açığa çıkarılmıştır. MEFV geni özellikle immün hücrelerden granulosit, monositlerde eksprese edilmektedir. Bununla birlikte dentritik hücreler ve fibroblastlarda da eksprese edildiği

bilinmektedir(23). MEFV geninde Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığına neden olan birçok gen belirlenmiştir. Orta büyüklüğe sahip olan MEFV geni, 16 kromozoma yerleşmiştir, 3505 nükleotit ve 10 exon bölgesine sahiptir ve pirin = ateş (Uluslararası ailevi akdeniz ateşi konsorsiyumuna göre) veya marenostri=Akdeniz(Fransız ailevi akdeniz ateşi konsorsiyumuna göre) adındaki proteini kodlamaktadır (17).

2016 yılına kadar yapılmış olan çalışmaların sonuçlarına göre, MEFV genindeki 314 adet farklı mutasyonunun Ailevi Akdeniz Ateşini ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (24). Bu 314 mutasyonun büyük çoğunluğu missense (yanlış anlamlı) mutasyonlardan oluşmaktadır.

Uluslararası ailevi akdeniz ateşi konsorsiyumunun adlandırmasına göre pirin proteini, 4 domainden oluşmuştur. Bunlar 1- N-terminal, 2- B-BOX type zinc finger, 3- Coiled Coil ve 4- B30.2 C terminaldir. Bu domainlerin en fonksiyonel olanı B30.2 C terminaldir. B30.2 C-terminal domaini 10. ekzonda kodlanmıştır. Bu ekzon üzerinde meydana gelen mutasyonlarda

(M694V ve M694I) hastalığın prognozu çok daha kötüleşmektedir. Yalnızca, V726A mutasyonunda hastalığın prognozu çok kötü seyretmemektedir (25).

Özellikle, hastalarda da M694V mutasyonunun homozigotluğu durumunda hastalığın prognozunun en kötü seyri ortaya çıkmaktadır (hastalığın erken yaşta ortaya çıkması, atakların kısa aralıklarla tekrarlanması, tedavide yüksek doz kolşisine gerek duyulması gibi). Bununla birlikte, bu mutasyona sahip hastalarda amiloidoz gelişimi riski de oldukça artmaktadır (17,26,27).

Ülkemizde yapılan çalışma da, MEFV geninde oluşan M694V, M680I, M694I, V726A, E148Q, R761H, K695R mutasyonları sonucu ailevi akdeniz ateşinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Ülkemizdeki ailevi akdeniz ateşi hastalarında M694V, M680I, M694I, V726A mutasyonları oldukça sık iken, E148Q, R761H, K695R mutasyonları çok nadir olarak görülmektedir (28).

## **2.5. Patogenez**

Ailevi Akdeniz ateşi hastalığı, periton, plevra ve sinovium gibi serozal zarlarda tekrar eden akut inflamatuvar reaksiyonlarla karakterizedir. Serozal zarların yanında deri, kas

ve skrotumda da akut inflamatuvar reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın atakları esnasında polimorfonükleer lökositlerin artmış olan kemotaktik aktiviteleri sonucu etkilenen bölgelere hareket etmeleri nedeniyle inflamasyon bölgelerinde en sık rastlanan hücreler nötrofillerdir. Hastalığın bulgularının yayımlandığı ilk yıllarda akdeniz bölgesinde yaşayanlarda görülmesi ve ailesel geçişe sahip olması nedeniyle doğumsal bir metabolizma bozukluğundan kaynaklandığı düşünülmüş, sorasında kanıtlanamaması nedeniyle bu görüşten vazgeçilmiştir (18,23). 1970'li yıllara gelindiğinde hastalığın ortaya çıkışında immünolojik mekanizmaların rolü olabileceği görüşü ortaya atılmıştır. 1984 yılında ailevi akdeniz ateşi hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, hastaların periton ve sinovial sıvılarında Kompleman 5a (C5a) inhibitörünün düzeylerinde azalma tespit edilmiştir (24). Kompleman 5a inhibitörü, organizmada inflamasyonun kontrolü için hayati role sahip olan bir moleküldür. Bu molekülün eksikliği durumunda inflamasyon kontrolü yapılamayacağından dolayı inflamasyonda ciddi bir artış meydana gelmektedir. Bunun yanında, 1989 yılında yapılan çalışmada, Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığına sahip bireylerde fosfolipaz A2' nin baskılanamadığını dolayısıyla araşidonik asit ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin salınımının artışıyla birlikte inflamasyonun meydana geldiği gösterilmiştir (30).

Ailevi akdeniz ateşi hastalığının hala aydınlatılmamış patogenezinde sitokin yapımındaki bozuklar da suçlanmıştır. Semptomların oluşmasında pirojen olarak rol oynayan sitokinler vasküler geçirgenliği artırarak inflamasyona zemin hazırlarlar. Bu hastalığın ortaya çıkışında en fonksiyonel sitokin IL-6 dır (31). Bunun yanında, IFN- $\gamma$  düzeylerinin hastalığın atak döneminde yükselmesi, atakların ortaya çıkışında T Helper 1 aracılı immun yanıtı akla getirmektedir (32). Ailevi akdeniz ateşi hastalarında sICAM-1 gibi adezyon proteinlerinin sentezindeki artışlardan dolayı lökositler endotel yüzeyine yapışarak ataklara zemin oluşturmaktadır (33).

Ailevi akdeniz ateşi hastalarının serumlarında çözünür interlökin-2 reseptör (sIL-2R) düzeylerinin yüksek düzeyde bulunması ve hastalığın atakları esnasında artışın dramatik bir hal almasından dolayı, bu hastalarda çözünür interlökin-2 reseptör (sIL-2R) artışı kaynaklı bir lenfositik aktivasyonun olabileceği bildirilmiştir (34). İnflamasyonun kontrol altında tutulmasında görevli olan interlökin-10 (IL-10) düzeylerinin hastalığın seyri ve atakları esnasında değişmemesi, Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığında sorunun oluşan inflamasyonun engellenememesinden kaynaklandığını gösteriyor olabilir (35).

1908 yılında ailevi akdeniz ateşi hastalığının bulgularının bildirilmesinden ancak 84 yıl sonra, 1992 yılında hastalığın oluşumundan sorumlu olan gen tanımlanabilmiştir ve bundan 5 yıl sonra MEFV geni klonlanmıştır. MEFV geninin klonlanmasından sonra hastalığın patogenezi için birçok yeni bilgiye ulaşılmıştır. AAA hastalığının oluşmasından sorumlu tutulan MEFV geni pürin ya da marenostin adlı proteini kodlamaktadır. Pirin proteininin görevi inflamasyonun kontrol altında tutulmasını sağlamaktadır. Bu nedenle bu proteini kodlayan gende oluşacak mutasyonlar pirinin inflamasyonu kontrol altında tutan fonksiyonunu yerine getirememesine ve inflamasyon kontrolünün bozulmasına neden olur. Travmalarda oluşan küçük hasarların ve çeşitli sitokinlerin meydana getirdiği stresin neden olduğu inflamatuvar yanıt normal koşullarda pirin proteini ile inhibe edilir. Fakat ailevi akdeniz ateşi hastalarında pirin proteinini kodlayan gende meydana gelen mutasyon nedeniyle pirin fonksiyonunu yerine getiremediği için yanıt kontrol edilememektedir (36).

781 aminoasitten oluşan ve nötrofiller, eozinofiller, monositler, dentritik hücreler ve fibroblastlarda sentez edilen pürin 5 farklı domainden (bölge) oluşur. Bunlar; PYD (PiRiN) bölgesi (N terminalinde), bZIP bölgesi, B-Box bölgesi, Coiled-coil ( $\alpha$ -Heliks) bölgesi ve B30.2/SPRY bölgesidir (C terminalinde) (37).

92 amino asitten oluşan PYD bölgesi apoptoziste görev alan DD (death domain), DED (death effector domain) ve CARD (caspase recruitment domain) bölümleri ile benzerlik göstermektedir. Bu bölgede meydana gelen mutasyonlar, apoptozis nokta benzeri protein (ASC) ile etkileşen kaspaz 1'in aktivasyonuna neden olur (38).

Kaspazlar sitokinleri aktive etmeleri sonucu inflamasyonu başlatabilmekte ya da programlanmış hücre ölümüne neden olmaktadır. İnflamasyonu başlatabilmeleri için intrasellüler bir protein kompleksine gerek duymaktadırlar. Normalde, bu moleküller hücre içinde inaktif monomerler şeklinde bulunurlar. Monomerler dimerizasyon ile aktif hale geçer. Kaspazların aktivasyonuna neden olan bu moleküllere inflamazom adı verilmiştir. İnflamazomlar; kaspaz 1, kaspaz 5, Pycard/ASC ve MEFV genindeki B30.2 kısmının NALP-3'dir. Bu moleküller tarafından aktif hale getirilen kaspazlar, proinflamatuvar sitokinler sınıfından olan IL-1 $\beta$  ve IL-18'in aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle, inflamazom yapısında gerçekleşecek bir mutasyon, inflamazomun fonksiyonunu yerine getiremeyerek kaspaz aktivasyonu

düzenlenmesindeki önemine göre otoinflamatuvar hastalıkların ortaya çıkmasına neden olacaktır (39).

Özetle, pürin geninde oluşan mutasyon sonucu bu proteinin fonksiyonundaki aksama nedeniyle kaspaz 1 aktivasyonu artacağından dolayı IL-1 $\beta$  sentezi de artacak ve sürekli bir inflamasyon durumu ortaya çıkacaktır (39).

Kaspaz-1'in inflamatuvar IL-1 ailesi sitokinlerini işlemesi diğer önemli rollerinden birisidir. Normalde, Pirin proteini ile IL-1 arasında benzerlik olmamasına rağmen kaspaz-1, pirin proteinini 330. amino asit dizisinden(Asp330) bölgesinden ayırır ve 451 amino asit zincirine sahip C-terminal fragmanı ile Nükleer Faktör kapp B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonunu arttıran 330 amino asit zincirine sahip N-terminal fragmanını meydana getirir. Mutant pirin

proteini mutant olmayan pirin proteini ile kıyaslandığında kaspaz-1 ile daha etkin ayrışmaktadır. Pirin proteininin kodlandığı bölgede mutasyon bulunan hastalardan elde edilen periferal kan mononükleer hücrelerinde, pirin proteininin %70 kısmının ayrıldığı bilinmektedir (40).

Kaspaz-1'in inflamatuvar IL-1 ailesi sitokinlerini işlemesi diğer önemli rollerinden birisidir. Normalde, Pirin proteini ile IL-1 arasında benzerlik olmamasına rağmen kaspaz-1, pirin proteinini 330. amino asit dizisinden(Asp330) bölgesinden ayırır ve 451 amino asit zincirine sahip C-terminal fragmanı ile Nükleer Faktör kapp B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonunu arttıran 330 amino asit zincirine sahip N-terminal fragmanını meydana getirir. Mutant pirin proteini mutant olmayan pirin proteini ile kıyaslandığında kaspaz-1 ile daha etkin ayrışmaktadır. Pirin proteininin kodlandığı bölgede mutasyon bulunan hastalardan elde edilen periferal kan mononükleer hücrelerinde, pirin proteininin %70 kısmının ayrıldığı bilinmektedir (40).

İkiye bölünmüş pirin proteininin NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerindeki etkisi net olarak bilinmese de, N-terminal ayrılmış parçasının, NF- $\kappa$ B aktivasyonunu yüksek düzeyde arttırdığı bilinmektedir. Pirin proteininin iki peptide parçalanması p65 ve NF- $\kappa$ B'nin hücre çekirdeğe girişini hızlandırarak ve bunun yanında kapp B inhibitörü yıkımına neden olarak, iki yol üzerinden NF- $\kappa$ B aktivasyonu meydana getirir (40).

Sonuç olarak, Akdeniz ateşi hastalığının ortaya çıkmasından sorumlu tutulan pirin proteini birden çok domainden meydana gelmektedir ve bu proteinin immün

yanıtın düzenlenmesinde önemli görevleri vardır. Pirin proteininin en önemli görevi kaspaz-1 aktivasyonunun (upregülasyon – downregülasyon) düzenlenmesidir. (40).

Ailesel Akdeniz ateşi hastalığındaki atakların sıklığı cinsiyetler arasında farklılık göstermektedir. Erkek hastalarda atakların sıklığı ve şiddeti daha fazladır. Bunun nedeninin, kadınlardaki seks hormonların koruyuculuğu olduğu düşünülmektedir (41).

## 2.6. Apoptoz

Organizmayı meydana getiren tüm hücreler doğarlar, farklılaşırlar, çoğalırlar ve ölürlür. Bütün bu olaylar doğal bir süreç olarak sürer gider. Bu doğal sürecin korunması, yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, ölüm/çoğalma dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi ile mümkün olabilmektedir. Eğer bu denge bozulursa birçok hastalık ortaya çıkmaktadır. Örneğin; hücrelerin çoğalma hızları artıp ölüm hızları (apoptoz, programlanmış hücre ölümü) azaldığında kanser hastalığı meydana gelmektedir Bunun yanında yüksek oranda hücre kaybının olduğu iskemi, kalp hastalıkları, nörodejeneratif hastalıkların patogenezi apoptotik mekanizmaların bozulmasından kaynaklanmaktadır (42).

Apoptoz en basit tanımıyla hücre intiharıdır. Apoptoz fizyolojik bir olaydır ve çeşitli proteinler aracılığıyla sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Bununla birlikte apoptozis de enerjiye ihtiyaç duyulur. Bu program embriyonik gelişim sırasında ihtiyaç duyulmayan dokuların uzaklaştırılması ya da fonksiyonlarını yitirmiş hücrelerin kontrollü olarak yok edilmesidir. Apoptoz, hücrede yapım yıkım olaylarının sağlıklı bir şekilde yürütülmesine olanak sağlar. Örneğin; hergün  $15 \times 10^{11}$  kan hücresi apoptozis yolu ile yok olmasına rağmen kemik iliğinde devam eden hücre bölünmesi sayesinde apoptozis ile ölen hücrelerin yeri yenileriyle doldurulmaktadır (42).

Apoptoz, Yunancada apo (ayrı) ve ptosis (düşmek) kelimelerinin birleşmesinden oluşan ve Homeros tarafından sonbaharda yaprak dökümünü ifade edebilmek için kullanılmış sözcüktür. Fakat, 1972 yılında İskoç bilim insanlarından Kerr, Wyllie ve Currie tarafından organizmadaki özgün ve sıkı bir şekilde düzenlenen hücre ölümlerine apoptozis adı verilmiştir. Fizyolojik olarak ölen hücrelerin, hüce çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarının olduğu ve organellerin iyi korunduğunu belirleyen

Kerr bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Bütün yüksek organizmalarda apoptozis olayı embriyo gelişimi, organizmanın gelişimi, yapım ve yıkım olaylarının devam ettirilmesi, organizmanın yenilenme ve tamir olaylarında, organların büyüklük ve fonksiyonlarının korunmasında ve organların patofizyolojisinde önemli bir rol oynamıştır. Yaşamın başlangıcı olan embriyo döneminden başlayarak ölüme kadar apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü devam etmektedir. Vücudumuzdaki hücrelerin apoptoza gitme zamanları oldukça farklıdır. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bir kısmı sadece birkaç saat yaşayabilmektedir. Deri, saç, gastrointestinal sistem, kan ve immun sistem gibi dokudaki devamlılığın sürdürülebilmesi apoptozisin sağlıklı bir şekilde yürütülmesine bağlıdır (43-44).

Apoptotik mekanizmalar büyüme faktörlerinin azalması, hücrede oksidatif strese artışı, hipoksi oluşumu, UV ya da çeşitli ilaçlar gibi farklı etmenlerinin etkisinde kalması sonucu hücrelerde oluşan hasar nedeniyle bu hücrelerin ortadan kaldırılabilmesi için önemli bir rol oynamaktadır (44). Apoptoz mekanizması oldukça karışık ve kompleks olayların bütünüdür. Apoptoz enerji bağımlı olarak oluşmakta ve enerji kullanımı sonucu moleküler kaskat olayları sonucu meydana gelmektedir. Apoptoz sürecinde oluşan ana morfoloji, nukleusun yoğunlaşması ve daha sonra parçalanmasıdır. Normalde hücrede 7 ye kadar olan kırılma onarılabilirken, apoptoz da bu kırılmaların sayısı 300.000'i bulduğu için onarılamaz ve hücre ölüme gider. Apoptoz yalnızca tek bir hücrede meydana gelip büzüşme ve çevredeki hücrelerle olan temasın kaybolması ile sonlanır. Na, K, Cl taşıyıcı sistemin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasında sıvı alışverişi durarak hücrenin büzüşmesine neden olmaktadır. Apoptotik uyarımı alan hücrenin hacmi 1/3'e düşer ve mikrovillusları kaybolarak çevre ile ilişkileri kesilir (44-46).

Apoptotik hücre, normal hücreler ile karşılaştırıldığında sitoplazması daha küçük ve daha yoğundur. Endoplazmik retikulum dışında tüm hücre organellerini korurlar. Elektron mikroskopundaki gözlenen değişikliklere değinecek olursak, plazma membranının şekli ve yapısı bozulur ve 'zeiosis' olarak adlandırılan kabarcıklanmalar oluşur. Sitoplazma yoğunluğu arttığı hücre hacmi azaldığı için organellerin kapladığı oran artacaktır. Apoptozda, nekrozda görüldüğü gibi hücre zarı bütünlüğü bozulmaz. Bu nedenle organizmada inflamatuvar reaksiyona neden olmaz. Apoptozda hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücre membran tomurcuklanması olurken sağlıklı hücrelerde

plazma membranının içinde bulunan fosfolipidlerin membran yüzeyine çıkmaktadır. Bu nedenle, fosfolipidlerin apoptoz sırasında hücrelerin plazma membranının dış yüzüne çıkmaktadır ve bu durum fagositik hücreler için sinyal olarak algılanmaktadır. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayının oluşumunda transglutaminaz enziminin önemli bir rolü vardır (46-48).

Kromatin çok yoğunlaştığı ve parçalar halinde bir araya toplanması nedeniyle çekirdek porları seçilemez hale gelir. Çekirdek şekli bozulup düzensizleşir ve sonrasında çekirdek, küçük çekirdek parçalarına bölünür. Çekirdekçik ise oldukça geniş bir hale gelir ve granülleri kaba granüller halinde dağılır. Sitoplazmadan parçacıklarından ve sıkı biçimde paketlenmiş organellerden meydana gelen zarla çevrilen apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasına dolayısıyla inflamasyon oluşumuna neden olmaksızın, özellikle makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilerek yok olurlar (46-49).

Apoptoz normal hücreler için fizyolojik bir olay olmasına rağmen patolojik şartlarda da meydana gelen fakat patolojik şartlar altında organizmanın apoptoz dengesi bozulmuştur. Fakat nekroz, hücre membran bütünlüğünün bozulması ile oluşan fizyolojik bir ölüm şeklidir. Apoptotik hücrede kromatin, çekirdek membranına toplanıp bir yığılma gösterirken, nekroziste kromatin için bu durum geçerli olmaz, kromatin normal hücredekine benzerdir.

Nekroza uğrayan hücrede, plazma membranının bütünlüğünü kaybettiği için hücre içinden dışına hücre içeriği çıkışı meydana gelir. Fakat apoptotik hücre, membran bütünlüğünü korumasına rağmen membranının üzerinde küçük cepçikler “membrane blebs” oluşur. Apoptoz ile ölen bir hücrede bu küçük cepçiklerin oluşması, yani hücre membran bütünlüğünün korunması sayesinde enflamasyon oluşmayacaktır. Organizmadaki hücrelerin nekroza uğraması sonucu her zaman enflamasyon oluşacaktır. Hücrenin şişip, membran bütünlüğünü kaybetmesi sonucu sitokin salınımı enflamasyonu başlatıcı faktördür (50).

Apoptozun ana morfolojik belirteci, çekirdeğin yoğunlaşmış parçalara ayrılmasıdır. Apoptozun başlangıcında hücreler arası adezyon kaybolarak hücre, komşu hücrelerden ayrılır ve özelleşmiş olan yüzey organelleri kaybolarak hücre şişer ve zar yapısı bozulur. Apoptozun daha sonraki sürecinde, zarda tomurcuklanmalar oluşmaya başlar ve hücre sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik



cisimciklere parçalanır. Bu apoptotik hücreler, komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınıp fagosite edilerek ortadan kaldırılır. Apoptotik hücrelerin tanınması olayı, apoptotik süreçte zarı meydana gelen değişiklikler ile mümkün olmaktadır. Bu meydana gelen değişikliklerden en önemlisi, normalde hücre zarının iç tabakasında olan fosfatidil serinin, aminofosfolipid transferaz enzimi ile zarın dış tabakasına çıkmasıdır. Fagositik hücrelerin vitronektin, lektin özelliğindeki reseptörleri, membranın dış tabakasındaki fosfolipidlerin ile bağlanarak apoptotik hücrenin fagosite edilerek ortadan kaldırılmasına neden olur (51).

Apoptoz sırasındaki meydana gelen diğer önemli morfolojik değişiklikler ise, elektron mikroskopunda apoptozis sırasında gözlemlenen kromatinin yoğunlaşması, sitoplazmanın hacminin azalması, plazma zarında veziküllerin oluşması, mitokondri dış zarında şişme, mitokondrial membranlar arası boşluğa sitokrom c ve bir oksidoredüktaz ile ilişkili flavoprotein olan Apoptoz İndükleyici Faktör (AİF)'ün salınımıdır (44).

Apoptozis genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla sıkı bir şekilde düzenlenir. Ayrıca, apoptozun gerçekleşebilmesi için yüksek oranda enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, hücrede bulunan ATP seviyesi hücrenin apoptoza mı gideceğine yoksa nekroza mı gideceğine yön verir. Bu durum da apoptozun oluşumunda mitokondrinin önemini büyük olduğunu göstermektedir. Hücrede bir hasar oluşumu sonucu enerji üretimi azalırsa hücre enerji sağlayamayacağından nekroz ile ölüme gider (48,52-54).

### **2.6.1. Apoptozun Mekanizmaları**

Apoptoz süreci ya hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu ya da çevreden gelen sinyallerle başlamaktadır. Apoptoz, hücrenin genlerin aktivasyonu ile otomatik olarak primer başlatılabilir ya da dış bir uyaran sonucu sekonder olarak başlar. Hücrenin dışından kaynaklanan uyaranlar arasında; tümör nekroz faktör (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktör (NGF), insülin benzeri büyüme faktör (IGF) vardır. Ayrıca, IL-2 gibi faktörlerin seviyelerinin azalması, glukokortikoidler, radyasyon, çeşitli ilaçlar ve çeşitli antijenler apoptozun indüklenmesinde önemli role sahiptirler. Otoimmün hastalık gelişiminde önemli olan Fas/FasL, sFas proteinleri,

virüsler de hücreyi apoptoza götürmektedir. Hücresel olarak, apoptozu uyaran ve engelleyen çok sayıda genin kodladığı protein bulunmaktadır (42,55,56).

Hücrenin apoptoza gitmesinde etkili olan hücre içi uyaranlar arasında ise sitokinler, hücre içi kalsiyum seviyelerinde artış, TNF, DNA hasarı sonrasında tümör süpressör gen olan p53'ün aktive olması, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkogenlerin kodladığı proteinler vardır. Bunların yanında hipertermi, sitotoksik kanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturan dış etmenler de hafif düzeylerde de olsa apoptoza neden olurlar (56). Apoptozun meydana gelmesi iki yol aracılığıyla mümkün olmaktadır.

Bunlar;

I. Ekstrinsik yol

- Direkt mekanizma
- Dolaylı mekanizma

II. İnstrinsik (Mitokondriyal) yoldur.

### **2.6.1.a. Ekstrinsik yol**

Ekstrinsik yol, diğer adıyla reseptör aracılı apoptoz yolunda, hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri olan Fas, TNF-R1, DG5'e kendi ligandlarından olan FasL, TNF-alfa, TRAIL bağlanması ile apoptoz süreci başlatılır (Şekil 6.1). Fas, TNF-R1 ve DG5 reseptörleri, kendi ligandlarıyla bağlandıklarında trimerik bir yapı kazanarak ölüm uyarısını almış olurlar. Sonrasında Fas reseptörü, birbirine komşu iki FasL'in birbirine bağlanması sonucu trimerik halden hekzamerik hale çevrilir. Daha sonra, Fas reseptörü sitoplazma içi FADD (Fas ilişkili ölüm bölgesi) ile TNF-R1 reseptörü ise sitoplazma içi TRADD (TNF-R1 ilişkili ölüm bölgesi) ile etkileşime girer. Böylece adaptör proteinler ile kaspazlar birleşerek sinyal DISC(Hücre ölümünü indükleyen sinyal kompleksi) oluşur. DISC kompleksi, prokaspaz 8'in uzun ve kısa kollarını keserek inaktif prokaspaz 8'i aktif formu olan kaspaz8'e çevirir. Oluşan kaspaz 8, doğrudan veya dolaylı olarak kaspaz 3'ü aktive edebilir. Kaspaz 8 ya prokaspaz 3'ü direk olarak aktive etmesi aracılığıyla hücre ölümüne sebep olur ya da

Bcl-2 ailesinin üyesi olan Bid'in c-terminal bölgesini keserek aktif formu olan tBid'in oluşmasına aracılık ederek apoptozun intrinsek yoldan ilerlemesine yol açar.

Hücreler kendi özelliklerine göre bu iki yoldan birine daha fazla yatkınlık gösterirler. Örneğin; lenfositler, kaspaz 3'ün direkt olarak aktive olduğu yolu tercih ederken, hepatositler kaspaz 3'ün dolaylı olarak aktive olduğu intrensek yolu tercih ederler. Aktive olan kaspaz 3, DNA'da parçalanmalar oluşturup hücrenin ölümüne sebep olur (57-59) (Şekil.2.6.1).

### 2.6.1.b. İntrensenk Yol

Çeşitli ilaçlar, iyonize radyasyon, oksidatif stres, DNA hasarı, büyüme faktör eksikliği gibi nedenlerden dolayı apoptotik uyarı alınıp proapoptotik proteinlerden olan Bid; bir antiapoptotik protein olan Bcl-2'yi inaktive eder. Daha sonra, Bax ve Bak aktifleşerek mitokondri membranında por oluşumuna neden olup zar potansiyelini değiştirir. Böylelikle mitokondri membranındaki porlardan sitokrom-c, Smac, Endo-G (Endonukleaz-G), Ca<sup>++</sup> ve AIF (Apoptoz indükleyici faktör) salınımı artar. Sitokrom-C, bilindiği üzere oksidatif fosforilasyon için elektron taşıma görevine sahiptir. SMAC, IAF (İnhibitör apoptotik faktör)'ü inhibe ederek apoptozun gerçekleşmesine zemin hazırlar. IAF'ün görevi kaspaz-3 ve kaspaz-8 aktivasyonunu engellerek apoptozu inhibe etmektir. AIF, çekirdeği parçalara ayırır. ENDO-G 'de DNA'yı parçalara ayırır. Ayrıca mitokondri porlarından salınan sitokrom-c, Apaf-1 (Apoptotik proteaz aktive eden faktör) ve ATP'nin de katılmasıyla sitozolde Apoptozom denen bir kompleks oluşturulur. Apoptozom normalde inaktif olan kaspaz 9'u keserek aktifleştirir. Kaspaz-9 'da inaktif prokaspaz-3'ü aktif kaspaz-3 haline getirir. Aktif kaspaz-3 ise ICAD (İnaktif kaspaz aktive edici DNaz)'ı inaktifleştirip CAD (Kaspaz aktive edici DNaz)'ı serbestleştirir. Serbestleştirilen CAD, çekirdekte kromatinin yoğunlaşmasına ve DNA'nın nukleozomal alt birimler halinde parçalanmasına neden olur (52-56) (Şekil.2.6.1).

Bcl-2 ailesinin sadece BH3 bölgesini içeren üyeleri tarafından mitokondriyal dış membran geçirgenliğinin oluşum mekanizmaları;

1. Otoreaktif T hücrelerin apoptozla ortadan kalkmaları, T hücre reseptörüne (TCR) ligandının bağlanması ile başlar. Reseptöre ligandı bağlandıktan sonra, inaktif halde bulunan Bim aktifleşerek Bax ve Bak'ın birbirleriyle etkileşime girmesine ve

oligomerik hal almalarına neden olur. Oligometrik hal mitokondri membranında geçirgenlik meydana getirir (61).

2. Aktif kaspaz 8 eksikliğinde Bid'in c-terminal bölgesi kesilerek aktif formu olan tBid'in oluşur. Oluşan tBid ise membranında geçirgenlik meydana getirir (61).

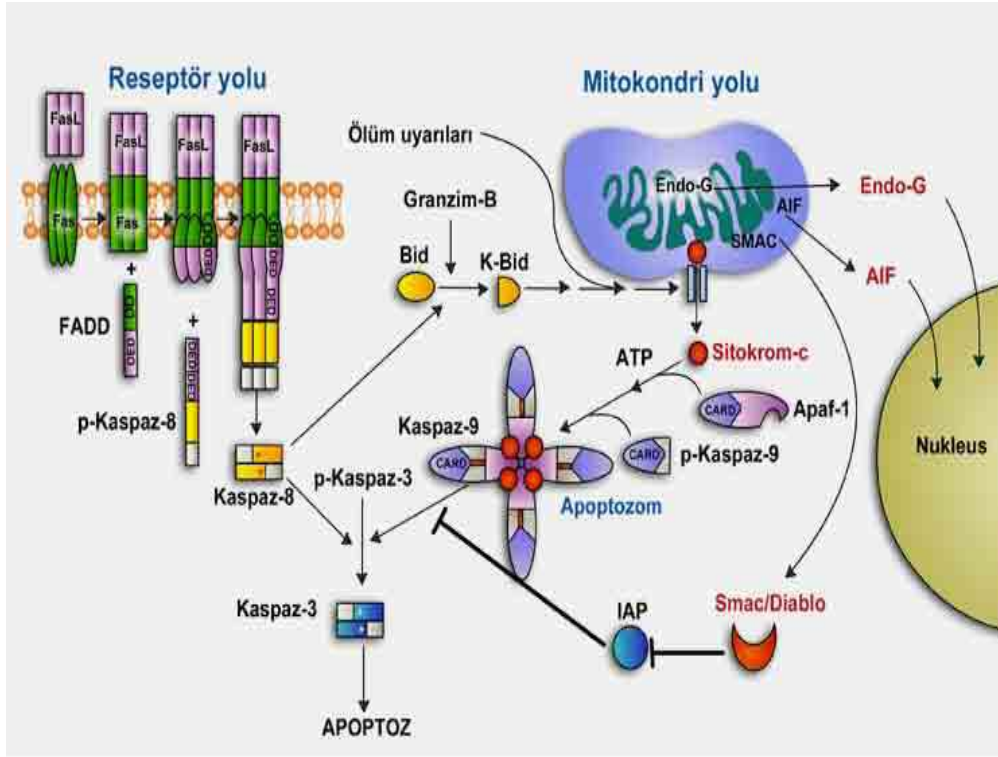
3. Sitotoksik T hücreleri, FasL/Fas reseptörü aracılığıyla apoptotik hücreleri tanıyıp öldürürler. Bunu başaramadıkları zaman perforin ve granzim B salınımına neden olurlar. Salınan perforin ise hücre membranında cep (por) oluşturup Granzim B'nin hücre içine girmesine neden olur. Granzim B proteini direkt olarak kaspaz 3, 8 ve Bid'i hedef alır. Granzim B, Bid'i aktif formu olan tBid haline dönüştürerek tBid aracılığıyla mitokondri membranında geçirgenlik meydana getirir (62).

d) DNA hasarında p53 tarafından PUMA ve NOXA adlı proteinlerin sentezini artırarak aktive ettiği Bax ve Bak aracılığıyla mitokondri membranında geçirgenlik meydana gelir (63).

Mitokondri membranında geçirgenlik oluşumunun gerçekleşmesi ile birlikte mitokondriden apoptozu başlatan sitokrom-c ile birlikte Smac, AIF, endonükleaz G ve Omi gibi maddelerin salınımına neden olur ve böylelikle apoptozis aktivasyonu gerçekleşmiş olur (63).

### **2.6.1.c. Diğer Yollar**

Perforin/granzim yolunda granzim B ya da granzim A yardımıyla apoptoz aktivasyonu gerçekleştirilir. Bu yolda apoptoz kaspaz 3'ün parçalanması ile başlayıp DNA kırıklarının oluşumu, hücre iskeletinin ve çekirdek proteinlerinin parçalanması, proteinlerin arasında çapraz bağların oluşması, apoptotik yapıların oluşumu, fagositik hücre reseptörleri için ligantların ekspresyonu ve sonucunda fagositik hücreler tarafından tanınıp ortadan kaldırılması ile son bulmaktadır (61) (Şekil.2.6.1).



**Şekil 2.1:** Apoptoz mekanizmaları (Oral, Ö., Irmak, S., Ekici, S., & Gözüaçık, D. (2012). *Autophagy in urology*, 257)

### 2.6.2. Kaspazlar

Kaspazlar, apoptozun gerçekleşmesinde anahtar rol oynayan multigen ailesinden meydana gelen sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Aspartat rezidüsünden sonraki peptit bağımlı koparılırlar. Normalde inaktif olarak bulunan proteinler, çeşitli yollardaki enzimlerle ya da maddelerle aktive edilmelerinin ardından hücre hedeflerindeki tetrapeptit motifleri tanıyarak aspartat rezidüsünden sonraki peptit bağımlı koparılırlar (65).

Kaspazlar ilk olarak, bir nematod olan *C. elegans*'te keşfedilmişlerdir. Kaspazların tümü benzer aminoasit dağılımına sahip oldukları için yapısal ve substrat spesifikliği açısından da benzer özellikleri paylaşmaktadırlar. Tüm kaspazlar inaktif şekilleri olan proenzimler şeklinde sentez edilirler (65).

Kaspazlar 3 kısımdan meydana gelirler; NH - terminal kısım, geniş alt ünite (20kD civarı) ve küçük alt ünite (10kD civarı). Proteolitik süreç esnasında

aktivasyona uğrayan kısımlar olan geniş ve küçük altüniteler arasında heterodimer oluşturacak şekilde birleşmeler açığa çıkar (66).

NH- terminal kısmı yüksek değişime sahip bir dizilimden oluşmaktadır ve oldukça uzundur. Ve bu kısım aktivasyonun düzenlenmesi için önemli rol oynar. Bu kısım ile proenzimden elde edilen diğer tüm kısımlar yani kaspaz konsensüs bölgeleri kaspazların inaktif halden aktif hale geçmesi için gerekli olan bölgelerdir. Kaspazlar aspartat rezidüsünün karboksil ucundan peptit bağı kesme özgülüğe sahip proteazlardandır. Kaspazların spesiflikleri yüksek düzeyde olsa da, substrat tanımlanmasında her optimal tetrapeptid dizilime sahip proteaz kesilmez. Nedeni üçüncül protein yapısının da substrat tanımlaması üzerine olan etkisidir (66).

Kaspazlar 3 sınıfa ayrılır;

### **1. Kaspaz Kesme Spesifliği:**

Kaspaz kesme spesifliği tetra peptid tanıma bölegesini aracılığıyla mümkün olmaktadır. Aspartat rezidüsünün karboksil tarafından peptit bağı koparılmaktadır. Kaspazlar bu tetra peptitleri spesifik olarak tanırlar. Bu bölgeler C'den N'ya doğru numaralandırılır (P4-P3-P2-P1). Kaspazlar P1 bölgesinde kesin olarak aspartata gereksinim duyarlar. Bununla birlikte, P4 pozisyonu substrat spesifliği için hayati rol oynar. P4 pozisyonunda; Grup 1 de yer alan insan kaspaz 1,4,5 enzimleri daha çok Tyr, Trp veya Leu amino asitlerinin yapısında bulundurlar. Grup 2 yi oluşturan kaspazlar 2,3,7 ise P4 pozisyonunda Asp ve P3 pozisyonunda Glu amino asitlerini bulundurlar, grup III enzimleri 6, 8, 9, 10 ise P4 pozisyonunda Ile, Leu veya Val amino asitini yapısında bulundurlar (63,64) (Şekil.2.6.2).

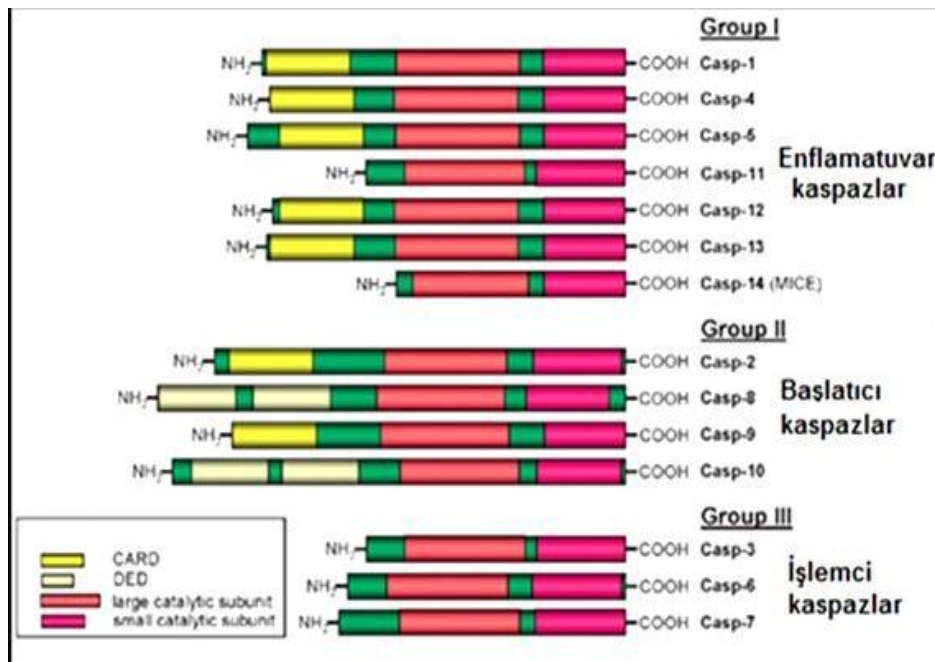
### **2. Pro-domain uzunluğu:**

Grup 1 ait enzimler enflamasyonda rol oynarlarken, Grup II ve III kaspazları apoptozda görev alırlar. Grup III kaspazlarından çok önemli bir kısım (kaspaz 8,9,10) uzun prodomaine sahiptirler ve apoptozda başlatıcı olarak görev alırlar. Buna karşın kaspaz 3 ve 7 (Grup II) sonlandırıcı kaspazlardandır ve kısa prodomaine sahiptirler. Grup III üyesi kaspaz 6 ise kısa prodomaine sahiptir. Kaspaz 2, Grup II üyesi olmasına rağmen uzun N-terminal prodomaine sahiptir. Buna ek olarak grup III insan kaspaz 9 ve 8 enzimlerinde CARD (Caspase Recruitment Domain) bölgeleri vardır. Bu bölgeleri

sayesinde adaptör proteinleri ile etkileşerek ölüm-reseptör kompleksine bağlanır (66,67) (Şekil.2.6.2).

### 3. Fonksiyonuna göre:

İnflamatuvar kaspazlar ailesinden olan ICE (IL-1 değıştirici enzim) kaspazlar; kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13 ve kaspaz 14 olmak üzere geniş bir kaspaz grubunu içermektedir. Bu ailenin üyesi olan kaspazlar inflamasyonda rol oynamaktadırlar. İnme ve alzheimer gibi hastalıklarda önemli modülatör rolü oynamaktadır. Bu aileden ilk bulunan kaspaz 1 dir (69) (Şekil.2.6.2).



Şekil 2.2: Kaspazlar (Oral, Ö., Irmak, S., Ekici, S., & Gözüaçık, D. (2012). Autophagy in urology, 259 )

#### 2.6.3.1. Kaspaz 3

Tüm kaspaz ailesinde olduğu gibi aktif merkezinde sistein molekülü taşıyıp aspartat rezidüsünü karboksil ucundan kesen kaspaz 3, nadir de olsa alternatif olarak CPP32, Yama, Apopain isimleriyle de karşımıza çıkmaktadır. Büyük bir aile olan kaspazların üyesi kaspaz 3, diğer kaspaz ailesi üyelerinden başlatıcı kaspazlar olarak adlandırılan kaspaz 8 ve kaspaz 9 tarafından aktive edilmektedir. Aktive olduktan sonra hücrelerdeki kaspaz ailesinden olmayan hedef proteinlerini spesifik bölgelerinden kesmektedir. Bu

spesifik bölgelere örnek olarak poly (ADP-riboz)polimeraz- 1 (PARP-1) enziminin kaspaz 3 tarafından kesilmesi örnek verilebilir (69,70).

Kaspaz 3 aktive olduktan sonra kesme işlemi tek bir spesifik noktada, çeşitli yollarla direk olarak yada indirek etki ile mümkün olmaktadır. Örnek verecek olursak, endonükleaz CAD inhibitörü olan ICAD ancak kesildiğinde aktive olabilmektedir. Kesilen parça aktif olan kısım olarak ortama salınmaktadır. Kaspaz 3'ün aktive olması ve hedef proteinlerdeki spesifik bölgelerde kesim işlemini gerçekleştirmesi ve morfolojik değişiklikler yaparak apoptozun oluşumuna önemli katkı sağlar (69,71).

Aktif kaspaz 3'ün etki ettiği spesifik bölgeleri üzerinden kesim yaptığı substratlar arasında; PARP, SREB, Kaspaz 6, Kaspaz 7, Kaspaz 9, DNA-PK, MDM 2, B-Katenin, Laminler, Numa, Topoizomeraz 1, FAK, p21, Calpastatin, ICAD... gibi moleküller vardır (71).

Bilindiği üzere, başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazların fonksiyonları birbirinden oldukça farklıdır. Kısa pro-domain içeren kaspazlardan olan kaspaz 3, diğer kısa pro-domain içeren kaspazlar gibi başlatıcı kaspazlar tarafından meydana getirilen proteolizis sonucunda aktive edilirler. Kaspaz 8'in ölüm-reseptör kompleksine (DRC) bağlanması aracılığıyla prokaspaz 3 kesilerek aktif kaspaz 3 oluşumu sağlanmaktadır. Fakat kaspaz 8'in kaspaz 3'ü kesmesinin yanında aynı zamanda BID, Bcl-2/Bax ailesine ait molekülleri de keserek apoptozu indükleyebilmektedir.

Ayrıca, Apaf/Kaspaz 9 arasındaki çapraz ilişki sonucu kaspaz 3 ve kaspaz 6 aktivatör gibi davranarak başlatıcı kaspazların, kaspaz 2, 8 ve 10'un uzun prodomain kısımlarını keserek aktive etmektedir (69,70).

### **2.6.3.2. Kaspaz 8**

Geniş kaspaz ailesinin bir üyesi olan Kaspaz 8, nadir olarak alternatif isimlerle de kullanılmaktadır. Kaspaz 8'e verilen alternatif isimler FLICE, MACH, Mch5 olarak karşımıza çıkmaktadır. Kaspaz 8, kaspaz 3'ün aspartat rezidülerini karboksil ucundan kesmek suretiyle kaspaz 3'ü aktifleştirerek apoptozun başlamasına ve gerçekleşmesine aracılık eder (69,72).

Aktif kaspaz 8'in etki ettiği spesifik bölgeleri üzerinden kesim yaptığı substratlar arasında kaspaz ailesinden birçok üye ile birlikte birkaç substrat molekül vardır.



Örneğin; Kaspaz 3, Kaspaz 4, Kaspaz 6, Kaspaz 7, Kaspaz 9, Kaspaz 10, Kaspaz 13, PARP, Bid... gibi moleküller kaspaz 8'in etki ettiği moleküller arasındadır (72).

Başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazların fonksiyonları birbirinden oldukça farklıdır. Kısa pro-domain içeren kaspazlardan olan kaspaz 3, diğer kısa pro-domain içeren kaspazlar gibi başlatıcı kaspazlar tarafından meydana getirilen proteolizis sonucunda aktive edilirler. Başlatıcı kaspazlardan olan Kaspaz 8'in ölüm-reseptör kompleksine (DRC) bağlanması ile prokaspaz 3 kesilerek aktif kaspaz 3 oluşumu sağlanmaktadır. Kaspaz 8 aynı zamanda BID, Bcl-2/Bax ailesine ait molekülleri de keserek apoptozu indükleyebilmektedir. Ayrıca, Kaspaz 8'in uzun prodomain kısımları ile Apaf/Kaspaz 9 arasındaki çapraz ilişki sonucu da hücre apoptoza gitmektedir (69,72).

Kaspaz 8, ölüm ligand reseptörüne sinyal komplekslerinin bağlanması ile aktif hale geçmektedir. Ölüm ligand reseptörü, sinir büyüme faktörü (NGF) ve TNF ailesindedir. TNF $\alpha$ , FasL ve TRAIL ligandları ile bağlanabilirler. İnaktif durumdaki Prokaspaz 8'in N-terminal prodomain kısmında iki DED homolog domaini bulunmaktadır.

Prokaspaz 8 reseptöre bağlı adaptöre (Mort 1) bağlanarak DED kısımlarında homofilik etkileşimler meydana getirir. Proenzimin bağlanması ile oluşan aktivasyondan sonra, kaspaz 8 apoptoz sinyali oluşturmakta, oluşan sinyal sonucunda da kaspaz 3 aktivasyonu proteolitik yolla ya da indirekt olarak kesme/aktivasyon aracılığıyla Bid üzerinden sağlanmaktadır. Bid ise mitokondriyal Sitokrom c salınımına ve kaspaz 9 aktivasyonuna yol açar (69,72).

### **2.6.3.3. Kaspaz 9**

Tüm kaspaz ailesinde olduğu gibi aktif merkezinde sistein molekülü taşıyıp aspartat rezidüsünü karboksil ucundan peptit bağını kesen kaspaz 9, nadir olarak kullanılmasına rağmen farklı alternatif isimlerle belirtilebilmektedir. Bu alternatif isimler Apaf 3, ICE-LAP 6, Mch 6 dir. Başlatıcı kaspazlar olarak adlandırılan Kaspaz 9, kaspaz ailesinin bir üyesi olan kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozun başlama sinyalinin oluşmasına ve apoptozun gerçekleşebilmesine aracılık etmektedir (69,71). Aktif kaspaz 9'un etki ettiği spesifik bölgeleri üzerinden kesim yaptığı substratlar arasında; Kaspaz 3, Pro Kaspaz 9, Kaspaz 7, PARP... gibi moleküller vardır (71).

U.V ışığı, kimyasal maddeler, DNA bozulmasına yol açan ajanlar ve kanser tedavilerinde kullanılan çeşitli kemoterapötikler hücrenin apoptozla ölümüne gitmesine neden olmaktadır. Bu faktörlerin apoptozu başlatması mitokondriyal hasar ile ilişkilidir. Mitokondriyal hasar oluştuktan sonra sitokrom c sitoplazmaya salınmakta sonrasında kaspaz 9 aktivasyonu ile apoptoz gerçekleşmektedir (42,50)

Prokaspaz 9, Apaf-1 ve sitokrom c 'nin oluşturduğu kompleks, aktif kaspaz 9'u meydana getirir. Kaspaz 9 ise prokaspaz 3'ü keserek aktifleştirir ve apoptozu başlatır (70,71). Apaf-1'un sitokrom c ye bağlanması sonucu dATP (veya ATP) bağlanması uyarılır, sonrasında "Apoptozom" adını alan Apaf-1/Sitokrom c/dATP kompleksi oluşur. Prokaspaz 9 bu kompleksi CARD ile Apaf-1 arasındaki homofilik iç etkileşimler aracılığıyla bağlar. Kendiliğinden gerçekleşen süreç sonucunda olgun kaspaz 9, 35kD geniş alt ünite ve buna N-terminal prodomain kısmından küçük alt ünite (12kD) eklenmesi ile aktif enzim meydana gelir(68).

#### **2.6.3.4. Apaf-1**

Apoptotik proteaz aktivasyon faktörleri yani Apaf ailesi üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar Apaf-

1(CED 4 ile homoloji gösteren adaptör/amplifikatör protein), Apaf 2(Sitokrom c), Apaf 3 (Kaspaz 9) olarak isimlendirilmişlerdir (71).

Apoptotik proteaz aktive eden faktör Apoptotic protease activating factor 1 (Apaf 1), *C. elegans* adlı parazitin CED 4 gen homologu olarak bilinmektedir. Apaf 1, 6 heliksten oluşan greek anahtar motifine sahip bir moleküldür. Greek anahtar motifi ise, kısa helikal bir motif ile kanatlı heliks motifinden meydana gelmektedir (73,74).

Başlatıcı kaspazlardan olan kaspaz 9, Apaf 1'e bağlandığında aktive olmaktadır. Apaf 1' bağlanması aracılığıyla aktif hale geçen kaspaz 9, kaspaz 3'ün aspartat rezidüsünün karboksil ucundaki peptid bağını keserek kaspaz 3'ün aktifleşmesine böylelikle apoptoz başlama sinyalinin oluşup apoptozun gerçekleşmesine neden olmaktadır (71).

### 2.6.3.5. Granzim B

İmmün sistemin T hücreleri ve doğuştan öldürücü hücreler virüsle enfekte olan hücreleri ortadan kaldırmak için granzim B molekülünün dahil olduğu granulo-ekzositoz yolunu kullanırlar. Perforin/granzim yolunda, yani granzim B molekülünün dahil olduğu yolda, granzim B ya da granzim A yardımıyla apoptoz aktivasyonu başlatılmakta ve apoptoz gerçekleştirilmektedir (71).

Perforin/granzim yolunda, apoptoz kaspaz 3'ün parçalanmasının ardından başlayıp DNA kırıklarının oluşumu, hücre iskeletinin ve çekirdek proteinlerinin parçalanması, proteinlerin arasında çapraz bağların oluşması, apoptotik yapıların oluşumu, fagositik hücre reseptörleri için ligantların ekspresyonu ve sonucunda fagositik hücreler tarafından tanınıp ortadan kaldırılması ile son bulmaktadır. Granzim A yolu tek iplikli DNA hasarı aracılığıyla paralel olan kaspaz bağımlı hücre ölüm yolunu aktive eder (64).

Sitotoksik T lenfositler, virüsler tarafından konakçı olarak kullanılan hücre yüzeyindeki antijenleri tanırlar ve yüzeylerinde Fas ligandı meydana getirip hedef hücrenin

Fas reseptörüne bağlanırlar. Sitotoksik T lenfositler sitoplazmalarında granzim B (serin proteaz) ve perforin adı verilen, apoptozisin oluşması için büyük öneme sahip olan proteinleri içeren sitoplazmik granüller taşırlar. Sitotoksik T lenfositler perforin molekülü yardımıyla hücre membranında porlar oluşturarak hedef hücrelerde kaspazları aktive edecek olan granzim B yi salgırlar. Bunun sonucunda, perforinin salınımını kapsayan yeni bir yol yardımıyla virüs tarafından enfekte edilmiş hücreye ya da tümör hücrelerine hücre üzerinde sitotoksik etkilerini uygulayabilirler (68,71).

Granzim A ise, apoptozisi uyaran ve kaspaz bağımsız yolunu aktive ederek sitotoksik T hücrelerinin, virüs tarafından enfekte edilmiş hücreye ya da tümör hücrelerine hücre üzerinde sitotoksik etkilerini uygulayabilmesinde büyük öneme sahiptir. Hücrede bir kez granzim A, DNA'az NM23-H1 aracılığı ile DNA nicking'i aktive ettiğinde bir tümör süpressör gen üretilir. Granzim A proteaz, nükleozomda toplanan endoplazmik retikilum ilişkili (SET) kompleksini parçalayarak NM23-H1'in inhibisyonunu serbest bırakır bu da apoptoza neden olan DNA parçalanmasına yol açar (76-78).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Kullanılan Gereçler

- Santrifüj (MSE MISTRAL 100)
- Derin dondurucu low -85 °C (SANYO-ultra)
- Vorteks (Nuvemix)
- Otomatik Elisa (Chemwell 2902)
- Ependorf tüp (1500 ml)
- Mikropipetler (Gilson)

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Hasta ve Kontrol Grubu

01.05.2016 – 01.11.2016 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Romotoloji Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran Ailevi Akdeniz Ateşi tanısı konmuş 30 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan alınan kanlar atak sonrasında alınmıştır ve bu hastalar kolşisin kullanmaktadır.

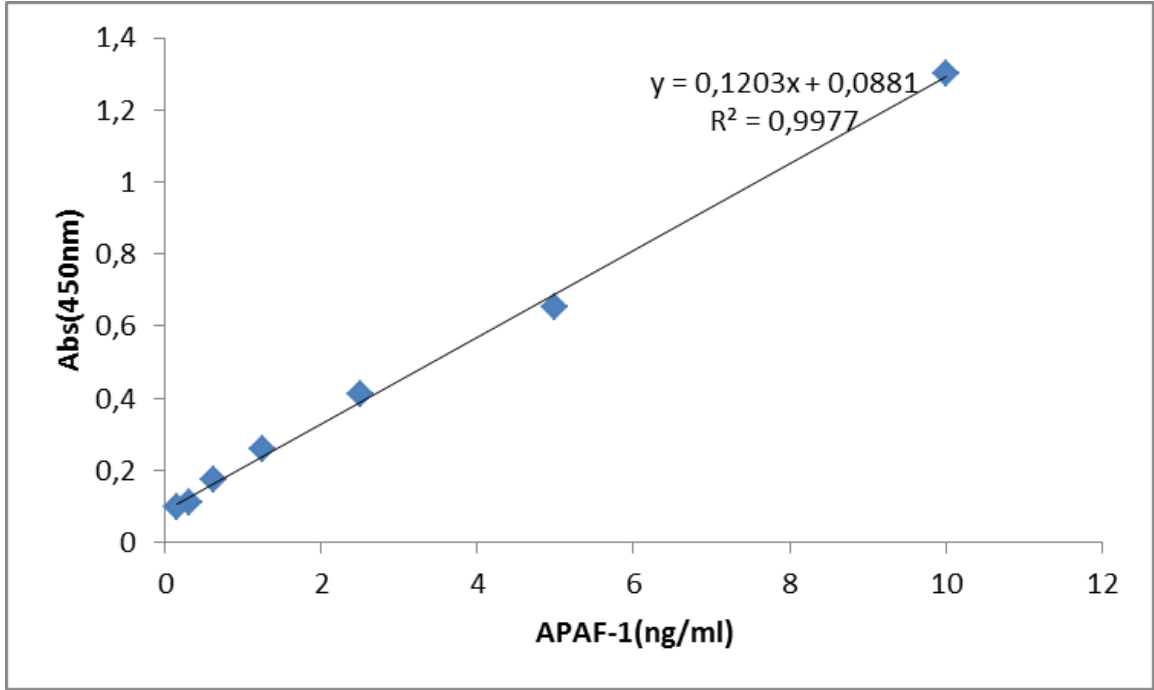
Kontrol grubu ise herhangi bir kronik hastalığı (diyabet, hipertansiyon, kanser hastalığı, ailevi akdeniz ateşi hastalığı) olmayan 30 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu.

#### 3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Kontrollerden ve Ailevi Akdeniz Ateşi tanısı konulan hastalardan, 10 ml kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar ependorf tüplere kısımlandırılarak ilgili parametreler çalışılmak üzere -80 °C'de muhafaza edildi.

### 3.2.3. Apaf-1 Tayini

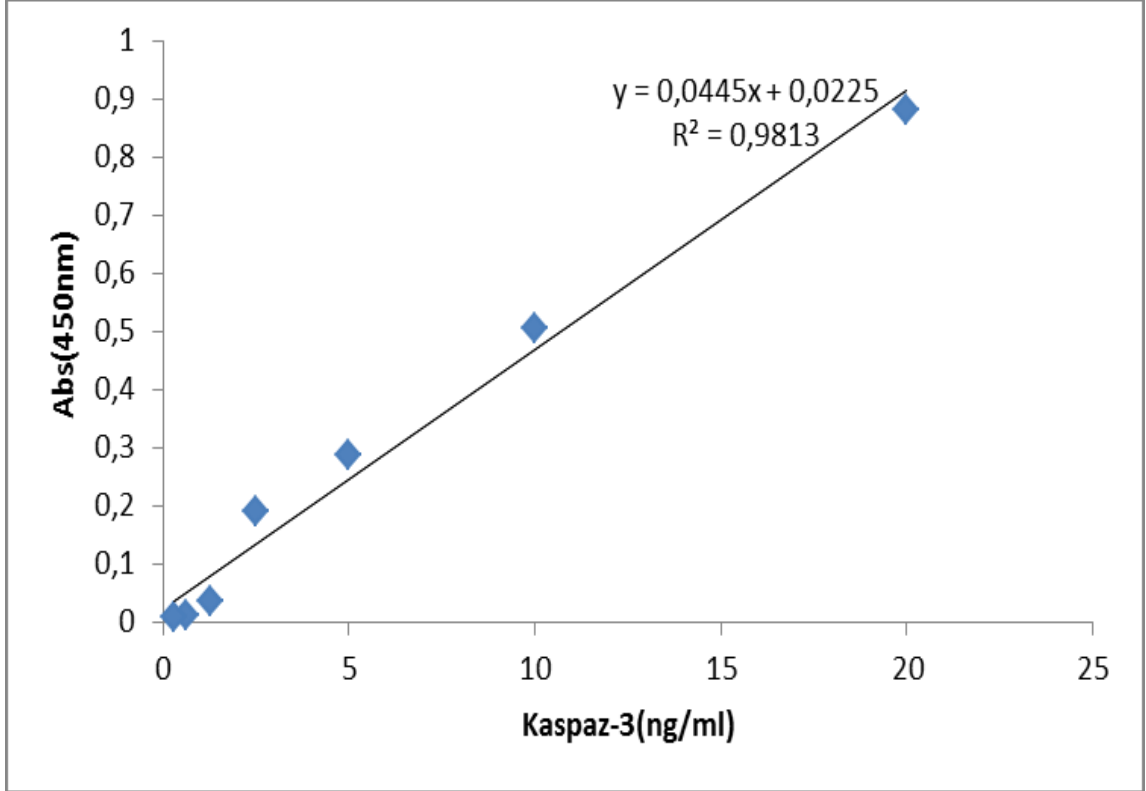
Elabscience marka elisa kiti kullanılarak Apaf-1 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



**Grafik 3.1:** Apaf-1 standart eğri grafiği

### 3.2.4. Kaspaz-3 Tayini

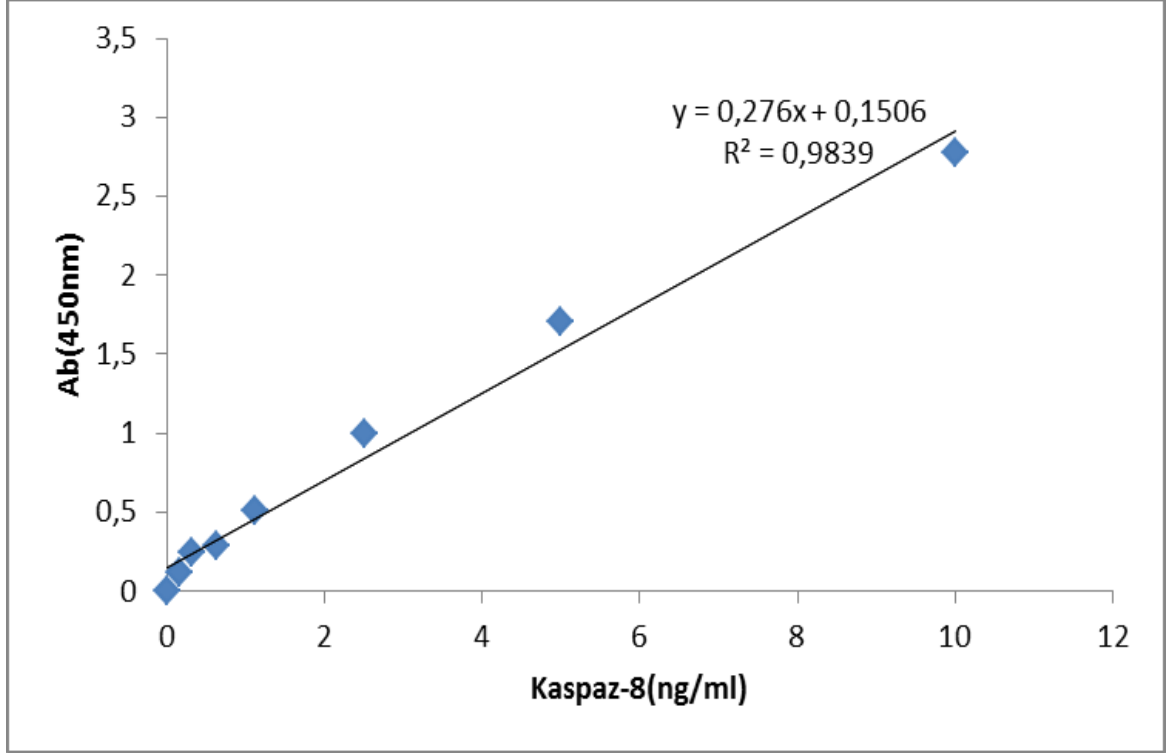
Elabscience marka elisa kiti kullanılarak kaspaz-3 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



**Grafik 3.2:** Kaspaz-3 standart eğri grafiği

### 3.2.5. Kaspaz-8 Tayini

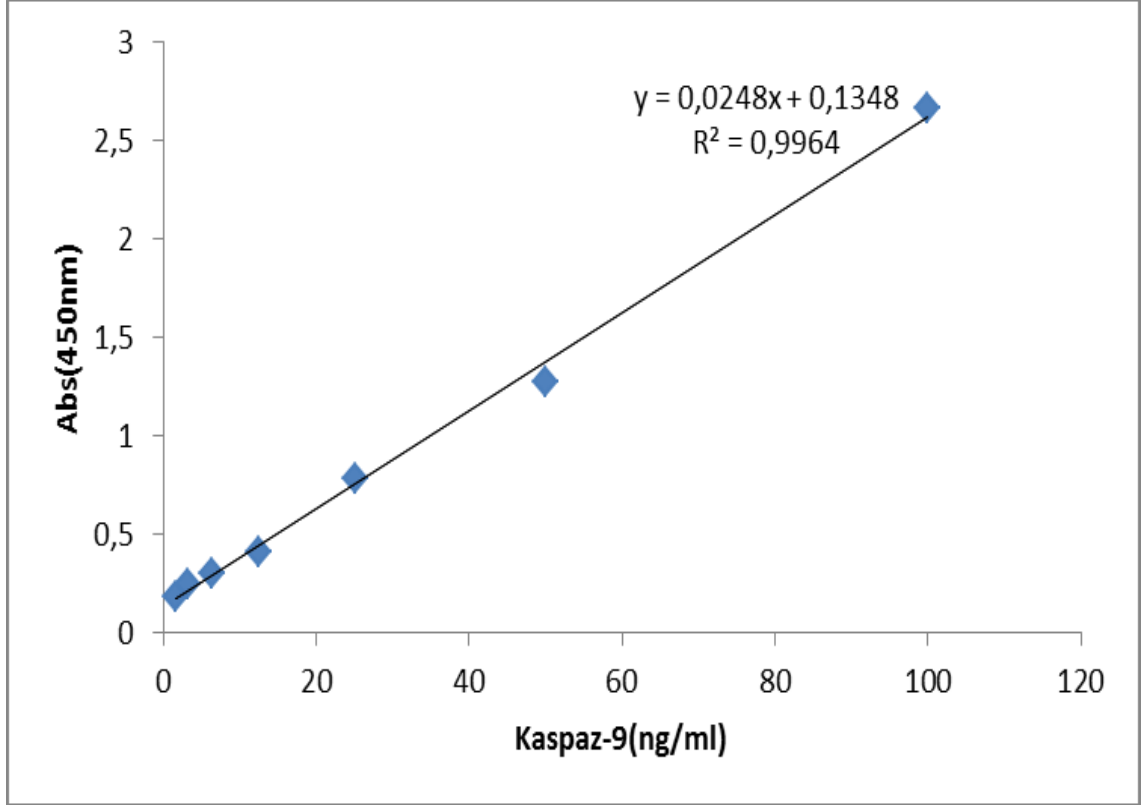
Elabscience marka elisa kiti kullanılarak Kaspaz-8 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



**Grafik 3.3:** Kaspaz-8 standart eğri grafiği

### 3.2.6. Kaspaz-9 Tayini

Elabscience marka elisa kiti kullanılarak Kaspaz-9 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.

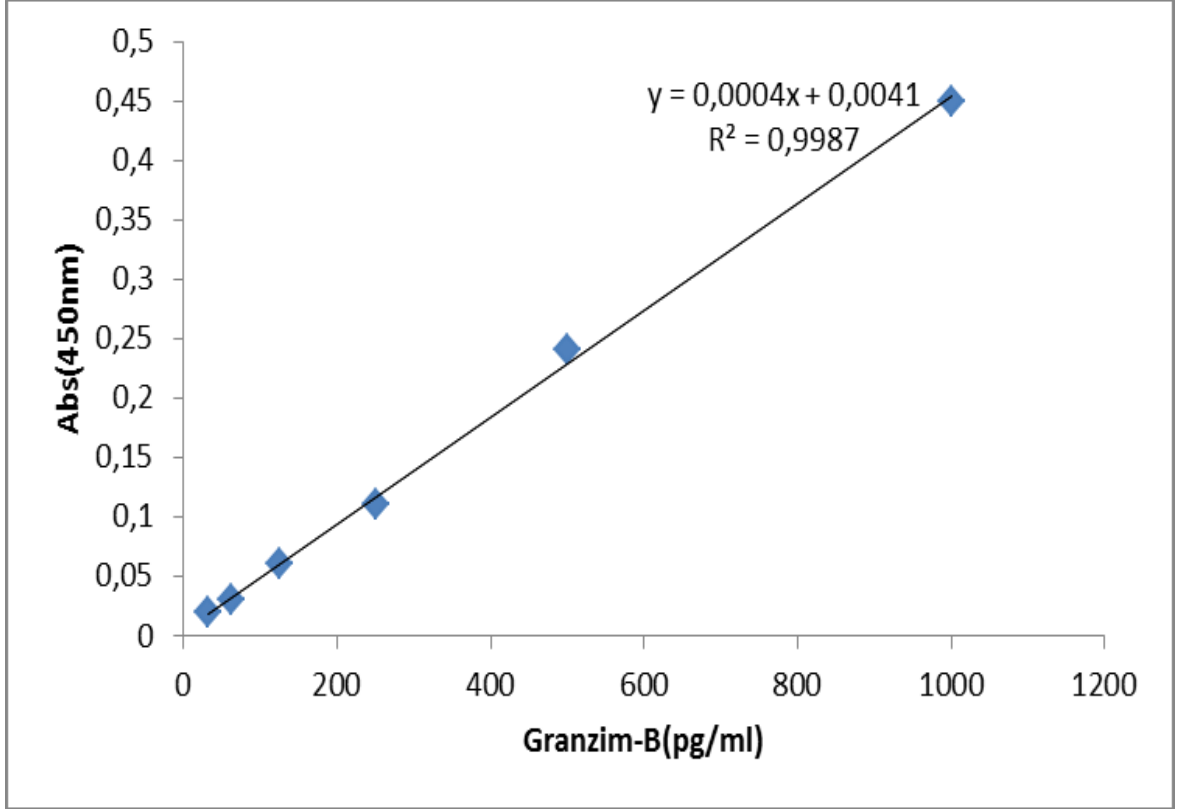


**Grafik 3.4:** Kaspaz-9 standart eğri grafiği



### 3.2.7. GRANZİM-B Tayini

Elabscience marka elisa kiti kullanılarak Granzim-B tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



**Grafik 3.5:** Granzim-B standart eğri grafiği

#### 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver: 14.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ve korelasyonun analizi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

Bu araştırmada  $\alpha= 0,01$ ;  $\beta= 0,10$  ve  $(1- \beta)= 0,90$  olarak alınıp her iki grubu oluşturan bireylerin sayısının 30 olarak belirlenmesine karar verilmiştir ( $p= 0,90592$ ).



## 5. ARAŞTIRMANIN ETİK YÖNÜ

Araştırmanın her aŐaması etik ilkelere uygun olarak yürütölmüŐtür. Uygulamaya geçmeden önce etik kuruldan (15.12.2015 tarihli, 2015-12/06 sayılı) (EK.1) ve çalışmanın yapılacağı kurumdan izin alınmıştır. Çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.



## 6. BULGULAR

Bu çalışmada kesin tanı konulmuş 30 Ailevi Akdeniz Ateşi hastasından alınmış olan serumlar kullanıldı. Kontrol grubu olarak da herhangi bir hastalığı bulunmayan 30 sağlıklı bireyin kan serumları kullanıldı. Hastalar, yaş ve cinsiyetleri bakımından herhangi bir ayrıma tabi tutulmaksızın, rastgele belirlendi. Yapılan çalışmada kontrol ve hasta grubuna ait demografik bilgiler, Çizelge 6.1 ve Çizelge 6.2’de özetlenmiştir.

**Çizelge 6.1:** Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaş, Cinsiyet ve Sigara Alışkanlığına göre Değerlendirilmesi

	KONTROL	HASTA	P
<b>Yaş ( X ± S )</b>	31,13 ±10,57	37,83 ±19,41	0,102
<b>Cinsiyet</b>			
Erkek N(%)	15(% 50)	12(% 40)	0,436
Kadın N(%)	15(% 50)	18(% 60)	
<b>Sigara Kullanımı</b>			
İçiyor N(%)	5	27	0,448
İçmiyor N(%)	25	3	

Kontrol grubunun % 50’ sini erkekler, % 50’sini kadınlar, hasta grubunun ise % 40’ını erkekler, % 60’ ını kadınlar oluşturmaktadır. AAA hastaları ve kontrollerin cinsiyet özellikleri çizelge 5.1’de verildi. Her iki grupta da cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (P=0,436).

Hasta grubunun yaş ortalaması 37,83 ±19,41, kontrol grubunun yaş ortalaması 31,13 ±10,57 (P=0,102).Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ortalaması yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Hasta ve kontrol grupları arasında sigara kullanma yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (P=0,448).

**Çizelge 6.2:** Kontrol ve Hasta Gruplarının Parametrelerinin Değerlendirilmesi

<b>Parametreler</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>	<b>P</b>
APAF-1	1,488±1,069	1,064±0,866	0,097
KASPAZ 8	3,542±1,100	3,3147±1,473	0,245
KASPAZ 9	8,144±0,878	7,332±0,910	0,001
KASPAZ 3	2,044±0,938	1,421±1,886	0,111
GRANZİM-B	0,216±0,596	0,101±0,067	0,304

Hasta ve kontrol grupları arasında; Kaspaz 3 (P=0,111), Granzim B (P=0,304), Apaf 1 (P=0,097) ve Kaspaz 8 (P=0,245) düzeylerine bakıldığında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat Kaspaz 9 (P=0,001) düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir.

## 7. TARTIŞMA

AAA peritonit ateş, artrit gibi bulgularla seyreden kalıtsal bir hastalıktır. AAA otozomal resesif olarak geçer (79). Yaygın olarak doğu akdeniz bölgesinde yaşayan Türk, Yahudi ve Ermeni toplumlarında görülmekle birlikte Yunan, İtalyan, İspanyol ve Japon toplumlarında da seyrek olarak görülür (10).

AAA periton, plevra ve sinovium gibi serozal zarlarda tekrar eden akut inflamatuvar reaksiyonları ile karakterizedir. Serozal zarların yanında deri, kas, skrotumda da akut inflamatuvar reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın atakları esnasında polimorfonükleer lökositlerin artmış olan kemotaktik aktiviteleri sonucu etkilenen bölgelere hareket etmeleri nedeniyle inflamasyon bölgelerinde en sık rastlanan hücreler nötrofillerdir (18,23).

Polimorfonükleer lökositlerin kemotaksisi ile, hücre boyutunda oluşan hasarın yayılması sınırlanmaya çalışılır (81). Apoptotik hücre miktarında görülen artış dengenin olumsuz yönde bozulmasına ve patolojik durumlar oluşmasına neden olur.

Organizmayı meydana getiren tüm hücreler doğarlar, farklılaşırlar, çoğalırlar ve ölürlür. Bütün bu olaylar doğal bir süreç olarak sürer gider. Bu doğal sürecin korunması, yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, yani yapım ile apoptozun dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi ile mümkün olabilmektedir (42). Apoptozis programlanmış hücre ölümünü kontrol eden aktif bir işlem olup hücrenin intiharı olarak tanımlanabilir (80).

Eğer apoptozis, yani hücre ölümü ile hücre çoğalması arasındaki denge bozulursa birçok hastalık ortaya çıkmaktadır. Örneğin; hücrelerin çoğalma hızları artıp apoptoz hızının azaldığı bazı patolojiler çeşitli organ kanserlerine yol açabilmektedir. Bunun yanında yüksek oranda hücre kaybının olduğu iskemi, kalp hastalıkları ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezesinde de apoptotik mekanizmaların bozulmasının rolü olduğu düşünülmektedir (42). Apoptozisin farmakolojik manipülasyonu, bu hastalıklardan korunma ve tedavide yeni imkanlar sunabilir (84).

Çalışmamızda AAA'da apoptozun rolünü gözlemeyi amaçladık. AAA ve kontrol grupta farklı apoptotik belirteçlerin düzeyini tespit ederek serum düzeyleri arasında her

iki grup arasında farklılık olup olmadığını araştırdık. Çalışma parametreleri kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, Granzim-B ve Apaf-1 idi

Kaspazlar apoptoziste önemli mediyatörlerdir. Bu proteinler, apoptozun gerçekleşmesinde anahtar rol oynayan multigen ailesinden meydana gelen sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Aspartat rezidüsünün karboksil grubunun dahil olduğu peptit bağını koparırlar. Normalde inaktif olarak bulunan proteinler, çeşitli yollardaki enzimlerle ya da maddelerle aktive edilmelerinin ardından hücresel hedeflerdeki tetrapeptit motifleri tanıyarak aspartat rezidüsünden sonraki peptit bağını koparırlar (65).

Kaspaz 3, birçok anahtar hücresel proteinlerin spesifik bölgelerinde özel kesimleri katalizleyerek, ölüm proteazlarını aktive eder. Kaspaz 3 değişik hücre tiplerinde kromatin kondansasyonu ve DNA fragmentasyonuna yol açması aracılığıyla hücre geri dönülmez olarak apoptoza gider (86). Çalışmamızda kaspaz 3 düzeyleri AAA hastaları ile kontrol grubu arasında kıyaslandığında, AAA hastalarında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte minimal bir azalma gözlemlendi.

Kaspaz 8, kaspaz 3'ün aspartat rezidülerinin karboksil ucunun katıldığı peptit bağını kesmesi aracılığıyla kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozun başlamasına ve gerçekleşmesine aracılık eder (71). Kaspaz 8 düzeyleri; AAA hastaları ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlam gözlenmedi. Fakat kaspaz 3 düzeylerinde olduğu gibi minimal bir azalma gözlemlendi.

Prokaspaz 9, Apaf-1 ve sitokrom c 'nin oluşturduğu kompleks, aktif kaspaz 9'u meydana getirir. Kaspaz 9 ise prokaspaz 3'ü keserek aktive eder ve apoptozu başlatır (70,71). Apaf-1'in sitokrom c ye bağlanması sonucu dATP (veya ATP) bağlanması uyarılır, sonrasında "Apoptozom" adını alan Apaf-1/Sitokrom c/dATP kompleksi oluşur. Prokaspaz 9 bu kompleksi CARD ile Apaf-1 arasındaki homofilik iç etkileşimler aracılığıyla bağlar. Kendiliğinden gerçekleşen süreç sonucunda olgun kaspaz 9, 35kD geniş alt ünite ve buna N-terminal prodomain kısmından küçük alt ünite (12kD) eklenmesi ile oluşması sonucu aktif enzim meydana gelir (68).

Kaspaz 9 embriyonik hücre ve fibroblastlar da bazı apoptotik uyarılara karşı dirençlidir (86). Çalışmamızda kaspaz 9; AAA hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak düşüktü.

Kaspaz 3 ve kaspaz 8 düzeyleri; AAA hastalarında minimal düşük, kaspaz 9 ise düşük bulundu. Bilindiği gibi kaspazlar hücrede inaktif proenzimler olarak bulunurlar. Apoptotik uyarılarda aktive edilirler. Aktive kaspazlar önemli hücre proteinlerinin bir kısmını parçalarlar. Diğer kaspazlar ve Bcl2 ailesi geri dönüşümsüz olarak yollarlar. Sitokrom C-Kaspaz 9, Apaf 1 ile etkileşir. Sonuçta Kaspaz 9 aktivasyonu inhibe edilir. Bu nedenle kaspaz 9 apoptozun kontrolünde önemli rol oynar. Kaspaz 9 düzeyleri, bu nedenle AAA'de azalmış olabilir. Hastalığın düzelmesi için gerekli olan hücrelerin parçalanmaması için kaspaz 9 aktivitesi, Bcl-X ile inhibe edilmiş olabilir. Sepsisli hastalarda yapılan bir çalışmada kaspaz inhibitörlerinin lenfositlerde kritik bir rol üstlenerek yaşam şansını artırdığı bulunmuştur. Sepsis, lenfosit apoptozunu indükler. Lenfositlerin ölümden korunması hastalığın tedavisi için önemlidir.

Farelerle yapılan bir çalışmada kaspaz 3 inhibitör, poly kaspaz inhibitör ve kaspaz 3 çalışılmıştır. Her iki inhibitör lenfosit apoptozunu önleyip hayatta kalmayı artırır. Poly kaspaz inhibitörleri bakteriyemiye çok azaltırlar. Ayrıca T hücrelerinden antiapoptik protein olan Bcl 2 salınımı artıp yaşam şansı artar. AAA hastalarında da mekanizma bu şekilde olabilir (71,86-88).

Apaf 1 normal memeli hücrelerinde otoinhibe monomer ve ADP'ye bağlı olarak bulunur. Hücre ölümünü uyarıcı çeşitli uyarıcılara cevap olarak Sitokrom C mitokondriden sitoplazmaya salınır ve monomerik Apaf 1'e bağlanır. Apoptozomlar oluşup kaspaz 9'u aktive eder (83). Çalışmamızda Apaf 1 düzeylerine baktığımızda; AAA hasta ve kontrol grubu arasında bir farklılık saptamadık. Muhtemelen kaspaz 9 azaldığı için Apaf 1 düzeyleri değişmemektedir.

İmmün sistemin T hücreleri ve doğuştan öldürücü hücreler, virüsle enfekte olan hücreleri ve tümör hücrelerini ortadan kaldırmak için granzim B molekülünün dahil olduğu granulo-ekzositoz yolunu kullanırlar. Perforin/granzim yolunda, yani granzim B molekülünün dahil olduğu yolda, apoptoz aktivasyonu başlatılmakta ve apoptoz gerçekleştirilmektedir (71,89). Çalışmamızda AAA ve hasta grubunda granzim B düzeyleri aynıydı.

AAA hastalarından alınan kan, atak dışı dönemde alınmıştır ve bu hastaların epikrizi incelendiğinde bütün hastalarımızın kolşinin kullandığı görülmektedir. Çalışma



parametrelerinin genellikle minimal düzeyde azalmasının sebebi atak dışı dönemde serum numunesi alınması ve ilaç tedavisi altında olmaları olabilir.

Apoptoz süreci ile ilişkili proteinlerle ilgili olarak yapılacak araştırmaların AAA hastalığının patogenezinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacağını düşünmekteyiz. Bu çalışmalar ayrıca oluşum mekanizmasında inflamasyon rol aldığı birçok hastalığın patolojisinin aydınlatılmasına ışık tutabilir.



## 8. KAYNAKLAR

1. Goldfinger SE. Colchicine for familial Mediterranean fever. *N Engl J Med.* (1972);287(25):1302
2. Kuijk, L. M., Govers, A. M., Hofhuis, W. J., & Frenkel, J. (2007). Effective treatment of a colchicine-resistant familial Mediterranean fever patient with anakinra. *Annals of the rheumatic diseases*, 66(11), 1545-1546.
3. Granel, B., Serratrice, J., Dodé, C., Grateau, G., Disdier, P., & Weiller, P. J. (2006). Overlap syndrome between FMF and TRAPS in a patient carrying MEFV and TNFRSF1A mutations. *Clinical and experimental rheumatology*, 25(4 Suppl 45), S93-5.
4. Turkish FMF Study Group. (2005). Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine*, 84(1), 1-11.
5. Solak, M., Yildiz, H., Köken, R., Erdogan, M., Eser, B. U. L., Sen, T., ... & Arikan, E. (2008). Analysis of familial Mediterranean fever gene mutations in 202 patients with familial Mediterranean fever. *Genetic testing*, 12(3), 341-344.
6. Jacobson, M. D., Burne, J. F., King, M. P., Miyashita, T., Reed, J. C., & Raff, M. C. (1993). Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA.
7. Ricci, J. E., Maulon, L., Luciano, F., Guerin, S., Livolsi, A., Mari, B., ... & Auberger, P. (1999). Cleavage and relocation of the tyrosine kinase P59FYN during Fas-mediated apoptosis in T lymphocytes. *Oncogene*, 18(27).
8. Kundu, S. D., Kim, I. Y., Yang, T., Doglio, L., Lang, S., Zhang, X., ... & Wang, Z. (2000). Absence of proximal duct apoptosis in the ventral prostate of transgenic mice carrying the C3 (1)-TGF- $\beta$  type II dominant negative receptor. *The Prostate*, 43(2), 118-124.

9. Datta, R., Banach, D., Kojima, H., Talanian, R. V., Alnemri, E. S., Wong, W. W., & Kufe, D. W. (1996). Activation of the CPP32 protease in apoptosis induced by 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine and other DNA-damaging agents. *Blood*, 88(6), 1936-1943.
10. Lidar, M., Livneh, A., (2007). Familial Mediterranean Fever: Clinical, Molecular and Management Advancements, *Neth. J. Med.*, 65:318–324.
11. Janeway, T. C., & Mosenthal, H. O. (1908). An Unusual Paroxysmal Syndrome, Probably Allied To Recurrent Vomiting. *Southern Medical Journal*, 1(5), 341-342.
12. Siegal S.(1945). Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med.*, 23:1–21.
13. Abrevaya Marmaralı.(2003).Garip bir karın ağrısı sendromu. *Türk TipCemMecNo:12*, 1946.
14. Siegal, S. (1945). Benign paroxysmal peritonitis. *Annals of internal medicine*, 23(1), 1-21. *Klinik Romatoloji*, 541-543.
15. Drenth, J. P., & Van Der Meer, J. W. (2001). Hereditary periodic fever. *New England journal of medicine*, 345(24), 1748-1757.
16. Pras, E., Aksentijevich, I., Gruberg, L., Balow Jr, J. E., Prosen, L., Dean, M., ... & Kastner, D. L. (1992). Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *New England Journal of Medicine*, 326(23), 1509-1513.
17. Tekin, M., Yalçınkaya, F., Tümer, N., Cakar, N., & Kocak, H. (1999). Familial Mediterranean fever and acute rheumatic fever: a pathogenetic relationship?. *Clinical rheumatology*, 18(6), 446-449.
18. Lidar, M., & Livneh, A. (2007). Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med*, 65(9), 318-24.

19. Yepiskoposyan, L., & Harutyunyan, A. (2007). Population genetics of familial Mediterranean fever: a review. *European Journal of Human Genetics*, 15(9), 911-916.
20. Korkmaz, C., Özdoğan, H., Kasapçopur, Ö., & Yazici, H. (2002). Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Annals of the rheumatic diseases*, 61(1), 79-81.
21. Turkish FMF Study Group. (2005). Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine*, 84(1), 1-11.
22. Zaks, N., Tokov, I., & Shinar, Y. (2002). Parameters associated with prolonged delay (10 years) in the diagnosis of FMF. *Clin Exp Rheumatol*, 20(Suppl 26), S93-4.
23. Centola, M., Wood, G., Frucht, D. M., Galon, J., Aringer, M., Farrell, C., ... & O'Shea, J. J. (2000). The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood*, 95(10), 3223-3231.
24. Stoffels, M., Szperl, A., Simon, A., Netea, M. G., Plantinga, T. S., van Deuren, M., ... & Frenkel, J. (2014). MEFV mutations affecting pyrin amino acid 577 cause autosomal dominant autoinflammatory disease. *Annals of the rheumatic diseases*, 73(2), 455-461. (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php?n=1> Erişim:28.01.2017)
25. Goulielmos, G. N., Fragouli, E., Aksentijevich, I., Sidiropoulos, P., Boumpas, D. T., & Eliopoulos, E. (2006). Mutational analysis of the PRYSPRY domain of pyrin and implications for familial mediterranean fever (FMF). *Biochemical and biophysical research communications*, 345(4), 1326-1332.

26. Mansour, I., Delague, V., Cazeneuve, C., Dodé, C., Chouery, E., Pêcheux, C., ... & Lefranc, G. (2001). Familial Mediterranean fever in Lebanon: mutation spectrum, evidence for cases in Maronites, Greek orthodoxes, Greek catholics, Syriacs and Chiites and for an association between amyloidosis and M694V and M694I mutations. *European Journal of Human Genetics*, 9(1), 51-55.
27. Mimouni, A., Magal, N., Stoffman, N., shohat, T., Minasian, A., Krasnov, M., Halpern, J.G., Rotter, J.I., Fischer-Ghondsian, N., Danon, L.Y., Shohat, M., (2000). Familial Mediterranean Fever: Effect of Genotype and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis. *Pediatrics*, 105 (5): 70.
28. Akar, N., Misiroglu, M., Yalcinkaya, F., Akar, E., Cakar, N., Tümer, N., ... & Matzner, Y. (2000). MEFV mutations in Turkish patients suffering from familial Mediterranean fever. *Human mutation*, 15(1), 118.
29. Kavak, U. S., & Özen, S. (2003). Ailesel Akdeniz Ateşi. *Hacettepe Ü. Tıp Fak. Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nefroloji Ün.*, 12(4),137.
30. Shohat, M., Korenberg, J. R., Schwabe, A. D., & Rotter, J. I. (1989). Hypothesis: Familial Mediterranean fever—A genetic disorder of the lipocortin family?. *American journal of medical genetics*, 34(2), 163-167.
31. Gang, N., Drenth, J.P., Langevitz, P., Zemer, D., Brezniak, N., Pras, M., van der Meer, J.W., Livneh, A.(1999). Activation of the cytokine network in familial Mediterranean fever, *J. Rheumatol.* Apr;26(4): 890-7.
32. Aypar, E., Özen, S., Okur, H., Kutluk, T., Besbaş, N., Bakkaloglu, A.(2003). Th1 Polarization İn Familial Mediterranean Fever, *J. Rheumatol.*;30:2011-3.
33. Direskeneli, H., Ozdogan, H., Korkmaz, C., Akoglu, T., & Yazici, H. (1999). Serum soluble intercellular adhesion molecule 1 and interleukin 8 levels in familial Mediterranean fever. *The Journal of rheumatology*, 26(9), 1983-1986.

34. Erken, E., Güneşçar, R., Ozbek, S., & Konca, K. (1996). Serum soluble interleukin-2 receptor levels in familial Mediterranean fever. *Annals of the rheumatic diseases*, 55(11), 852-855.
35. Baykal, Y., Sağlam, K., Yılmaz, M. I., Taslipinar, A., Akinci, S. B., & Inal, A. (2003). Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  level in familial Mediterranean fever patients. *Clinical rheumatology*, 22(2), 99-101.
36. French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* (1997). 17: 25-31.
37. Chae, J.J., Aksentijevich, I., Kastner, D.L.(2009).Advances In The Understanding Of Familial Mediterranean Fever And Possibilities For Targeted Therapy, *Br. J. Haematol.* 146(5): 467–478.
38. Matsushita, K., Takeoka, M., Sagara, J., Itano, N., Kurose, Y., Nakamura, A., (2009) A Splice Variant of ASC Regulates IL-1 $\beta$  Release and Aggregates Differently from Intact ASC, *Mediators of Inflammation*, 287387, 1.
39. Martinon, F., Burns, K., & Tschopp, J. (2002). The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Molecular cell*, 10(2), 417-426.
40. Chae, J. J., Wood, G., Richard, K., Jaffe, H., Colburn, N. T., Masters, S. L., ... & Kastner, D. L. (2008). The familial Mediterranean fever protein, pyrin, is cleaved by caspase-1 and activates NF- $\kappa$ B through its N-terminal fragment. *Blood*, 112(5), 1794-1803.
41. Mor, A., Gal, R., & Livneh, A. (2003). Abdominal and digestive system associations of familial Mediterranean fever. *The American journal of gastroenterology*, 98(12), 2594-2604.

42. Erdoğan, B. B., & Uzaslan, E. K. (2003). Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde Fas-FasL bağımlı apoptozis. *Türkiye Klinikleri Archives of Lung*, 4(3), 165-174.
43. Özvaran M K (2004): Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 5 (2): 110-115.
44. Akşit, Hasan ve Bildik Ayşegül.(2008). "Apoptozis." *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 19.1; 55-63.
45. Zhang J, Xu M.(2002). Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis, *Trends in Cell Biology*,12 (2): 84- 89).
46. Balakumaran, A., Campbell, G. A., & Moslen, M. T. (1996). Calcium Channel Blockers Induce Thymic Apoptosis in Vivo in Rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 139(1), 122-127.
47. Cohen, J. J. (1993). Apoptosis: the physiologic pathway of cell death. *Hospital Practice*, 28(12), 35-43.
48. Tomatır A. G. Apoptoz; programlı hücre ölümü, *T. Klin. J. Med. Sci.*, 2003, 23:499- 508.
49. Wyllie A H.(1980).Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation, *Nature*,284: 555- 556.
50. Cooper GM.(1994). Programmed cell death. *The cell*. In: Cooper GM (ed) Chapter 14. Washington: ASM Pres;592-6.
51. Behnia, M., Robertson, K. A., & Martin, W. J. (2000). Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *CHEST Journal*, 117(6), 1771-1777.

52. Sahaboglu, A.(2006). Deneysel Ýskemi-Reperfüzyon Olusturulmus Sıçan Retinasında Apoptozisin Ýncelenmesi Yüksek Lisans Tezi Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sanlıurfa.
53. Gavrieli, Y., Sherman, Y. and Ben-Sasson, S. A.(1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation, *J. Cell Biol.*, 119: 493-501pp.
54. Lu, J., Ashwell, K., Ken, W. S. and Waite, P.(2000) .Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis, *Spine*, 25: 1859-1866pp.
55. Bender L M, Morgan M J, Thomas L R, Liu Z G, Thorburn A (2005): The adaptor protein TRADD activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. *Cell Death and Differentiation*, 12: 473–481.
56. Adrain, C., & Martin, S. J. (2001). The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends in biochemical sciences*, 26(6), 390-397.
57. Spierings, D. C., de Vries, E. G., Vellenga, E., van den Heuvel, F. A., Koornstra, J. J., Wesseling, J., ... & de Jong, S. (2004). Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 52(6), 821-831.
58. Strasser, A., O'Connor, L., & Dixit, V. M. (2000). Apoptosis signaling. *Annual review of biochemistry*, 69(1), 217-245.
59. Smaili S. Hsu Y et al.(2000). Mitochondria in Ca<sup>2+</sup> signaling and apoptosis. *J. Bioener and Biomem*;32(1):35-46.
60. Palmer AM. Greengrass PM. Cavalla D.(2000). The role of mitochondria in apoptosis. *Drug News & Perspectives*; Vol. 13, No.6, 378-384.



61. Hung, R. W., & Chow, A. W. (2004). Dissecting the "end game": clinical relevance, molecular mechanisms and laboratory assessment of apoptosis. *Clinical and investigative medicine*, 27(6), 324.
62. Sutton, V. R., Davis, J. E., Cancilla, M., Johnstone, R. W., Ruefli, A. A., Sedelies, K., ... & Trapani, J. A. (2000). Initiation of apoptosis by granzyme B requires direct cleavage of bid, but not direct granzyme B-mediated caspase activation. *The Journal of experimental medicine*, 192(10), 1403-1414.
63. Chowdhury, I., Tharakan, B., & Bhat, G. (2006). Current concepts in apoptosis: the physiological suicide program revisited. *Cellular and molecular biology letters*, 11(4), 506-525.
64. Ross MH, Pawlina W.(2011). *Histology a text and atlas*. 6th edition. London: Wolters Kluwer, Lippincott Williams&Wilkins,p.93-97.
65. Nicholson, D.W. (1999) Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ*; 6: 1028-1042.
66. Thornberry, N.A., Lazebnik, Y. (1998). Caspases: Enemies Within. *Science*; 281: 5381, 1312-17.
67. Barinağa, M. (1998). Death By Dozens Of Cuts. *Science*; 280: 5360, 32-37.
68. Salvesen, G.S., Dixit, V.M. (1999). Caspase Activation: The Induced-Proximity Model. *Proceeding of The National Academy of Sciences of The USA*; 96: 217-245.
69. Kim, P.K., Mahidara, R., Seolo, W. (2001). The role of caspase-8 in resistance to cancer chemotherapy. *Drug Resist Updat*. 5: 293-6.

70. Yang JN, Liu CX. (2002). Caspases promoted DADA6 induced apoptosis in human Leukemia HL-60 cells. *Acta Pharmacol Sin.* 23(5): 461-6.
71. Moleküler Biyoloji. Yıldırım Ahmet, Bardakçı Fevzi ve ark., Nobel yayınları, 2. Baskı, 425-470.
72. Meller, R., Skradski, S., L., Simon, R., P. (2002). Expression Proteolysis and Activation of Caspases 6 and 7 During Rat C6 Glioma Cell Apoptosis. *Neurosci Lett.* 10: 324, 33-36.
73. Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutschg A, Wang X (Aug 1997). "Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3". *Cell.* 90 (3): 405–13.
74. Riedl SJ, Li W, Chao Y, Schwarzenbacher R, Shi Y (Apr 2005). "Structure of the apoptotic protease-activating factor 1 bound to ADP". *Nature.* 434 (7035): 926–33.
75. Budd, R. C. (2002). Death receptors couple to both cell proliferation and apoptosis. *The Journal of clinical investigation*, 109(4), 437-442.
76. Lieberman, J., & Fan, Z. (2003). Nuclear war: the granzyme A-bomb. *Current opinion in immunology*, 15(5), 553-559.
77. Fan, Z., Beresford, P. J., Oh, D. Y., Zhang, D., & Lieberman, J. (2003). Tumor suppressor NM23-H1 is a granzyme A-activated DNase during CTL-mediated apoptosis, and the nucleosome assembly protein SET is its inhibitor. *Cell*, 112(5), 659-672.
78. Eröz R, Karataş A, Alkoç A. O, Baltacı D, Oktay M, Çolakoğlu S.(2002). Apoptozis Hakkında Bilinenler, *Duzce Medical Journal*; 14(2): 87-101.

79. Evliyaoğlu O. , Bilici S. , Yolbaşı, Kelekçi S. , Şen V. (2009) , Diyarbakır yöresi ailevi akdeniz ateşli çocuklarda MEFV gen mutasyon sıklıkları, Dicle Tıp Dergisi, Cilt 36, Sayı: 2, (80-84).
80. Sarkis J. Kerr JF. , Bishop CJ.(1982) Necrosis and apoptosis distinct modes dead with fundamentally different significance, Pathol, Annu. , 17: 229-259.
81. Evon G., Little Wood T.(1998) , A matter of life and cell cleath, science , 28(1) : 1317-1321).
82. Sahunar R. , Doag Z. ,Mkhalov V. , Denton M., Wenber S.M. , Venhatochhalom MA.(1999), Apoptosis definitior mechanism and relerance to disease , Am. J Med, 107, 489-506.
83. Carson DA. , Riberio jm, Apoptosis and disease, Lancel (1993) , 341 1251 – 1254.
84. Thampson CB : , Apoptosis in the pathogenesis of autoimmune disease. immunal., immunopathol , 1995 , 267 , 1456 – 1462.
85. Porter, A. G., & Jänicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. Cell death and differentiation, 6(2), 99-104.
86. Hakem, R., Hakem, A., Duncan, G. S., Henderson, J. T., Woo, M., Soengas, M. S., & Potter, J. (1998). Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo. Cell, 94(3), 339-352.
87. Zhou, M., Li, Y., Hu, Q., Bai, X. C., Huang, W., Yan, C., ... & Shi, Y. (2015). Atomic structure of the apoptosome: mechanism of cytochrome c-and dATP-mediated activation of Apaf-1. Genes & development, 29(22), 2349-2361.

88. Hotchkiss, RS., Swanson PE.,Freeman BD.,Tinsley KW., Cobb JP., Matuschak GM., et al. (1999). Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction. *Critical care medicine*, 27(7), 1230-1251.
89. Elavazhagan, S., Fatehchand, K., Santhanam, V., Fang, H., Ren, L., Gautam, S., & Vasilakos, J. P. (2015). Granzyme B expression is enhanced in human monocytes by TLR8 agonists and contributes to antibody-dependent cellular cytotoxicity. *The Journal of Immunology*, 194(6), 2786-2795.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Canan Yılmaz
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas/1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü, 58140-Sivas
E-posta Adresi	<a href="mailto:biyolog_5858@hotmail.com">biyolog_5858@hotmail.com</a>

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Lisesi, 2006
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2013
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016
Ünvan	Biyolog

### İş Tecrübesi

Piramit Etüt Merkezi	Biyoloji Öğretmeni, 2015
Milli Eğitim Bakanlığı	Biyoloji Öğretmeni, 2015
Sivas Koleji	Biyoloji Öğretmeni, 2016-

## EKLER

### Ek 1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

#### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ailevi Akdeniz Ateőı (FMF) Hastalarında Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim, Apaf-1 Düzeylerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŐURÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıldama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2015-12/06	Tarih: 15.12.2015				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerçekte amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŐKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürőat Karadağ	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayőe Demirkazık Çançalar	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih Bolat	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ali Şahin	Romatoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

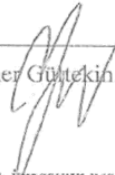
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) Hastalarında Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim, Apaf-1 Düzeylerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fakültesi Ek Derslik Binası (Acil Karşısı), Klinik Araştırmalar Etik Kurulu TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 258 00 25
	FAKS	0 346 258 00 24
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sevtap Bakır			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
DİĞER İSE BELİRTİNİZ:					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gütekin  
İmza:




Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) Hastalarında Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim, Apaf-1 Düzeylerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Hüseyin Saygın	Üroloji	Sivas Devlet Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Engin Daşlı	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Melih Arslan	Sınıf Öğretmeni	Reşit Akif Paşa İlkokulu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma



Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmamalıdır.



## Ek 2: Bilgilendirmiş Olur Formu



### C. Ü. TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın ...

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı ''Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Kaspaz 3, Kaspaz 8, Kaspaz 9, Granzim, Apaf-1 Düzeylerinin Araştırılması''

Bu çalışmamızın amacı, Ailevi Akdeniz Ateşi hastalarında kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 miktarlarının tayininin yapılması ile bu parametrenin hastalığın oluşumu ve seyri açısından öneminin belirlenmesidir. Bu çalışma ailevi akdeniz ateşi hastalığının oluşumu ile seyrinin aydınlatılmasına ve uzun vadede hastalığın tedavisine katkı sağlayabilir. Araştırmamızda 2 grup olacaktır. Bunlar: 1- Ailevi Akdeniz Ateşi hastaları 2- Herhangi bir enfeksiyon hastalığı, şeker hastalığı, tansiyon hastalığı, kalp damar hastalığı, kanser hastalığı bulunmayan sağlıklı bireyler. Burada kontrol grubu içerisinde değerlendirilecek sağlıklı bireylerin kanlarındaki kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 değerleri, bizim için sağlıklı bir insanda olması gereken kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 miktarları değerleri kabul edilecektir. Ve bu sağlıklı bireylerin kanlarındaki kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 değerleri, hasta grubundaki bireylerin kanlarındaki kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 değerleri ile karşılaştırılarak hasta grubundaki kan kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 değerlerinde bir değişim olup olmadığı belirlenecektir. Buradan yola çıkarak, kaspaz 3, kaspaz 8, kaspaz 9, granzim, Apaf-1 'in hastalığın oluşumu ve seyriindeki görevi ortaya çıkarılacaktır. Çalışmamıza katılmanız halinde sağlıklı birey olmanıza veya hasta birey olmanıza göre bu 2 gruptan birinde yer alacaksınız. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya dahil olmak için bir defa yaklaşık 10 mL kan vermeniz yeterli olacaktır. **Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:** 1) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması riski vardır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için büyük bir hassasiyet göstereceğiz.

Çalışmamıza katılmamız halinde Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı hakkında bilim dünyasına yeni bilgiler kazanılmasına aracılık etmiş olacaksınız. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 05426147909 numaralı telefonda araştırmacı Prof. Dr. Sevtap BAKIR'a başvurabilirsiniz.

Bu araştırma CÜBAP tarafından desteklenmektedir. Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

**Çalışmaya Katılma Onayı:** Gönüllüden bu kısmı kendi el yazısıyla yazması istenecektir.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

**Gönüllünün,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

**Açıklamaları yapan araştırmacının,**

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

\*Bu örnek form araştırmacılara fikir vermek için formda bulunması gereken asgari bilgiler verilerek hazırlanmıştır, gerektiğinde eklemeler yapılmalıdır. İstendiğinde Etik Kurul sekreterliğinden ya da Tıp Fakültesi web sayfasından temin edilerek ve üzerinde gerekli düzenlemeler yapılmak suretiyle kullanılabilir (ör. bu paragraf, metindeki noktalı kısımlar ve parantezler çıkarılmalı ve uygun şekilde düzenlenmelidir). Gönüllünün beyan ve imzası, bilgilendirme metninin devamı şeklinde olmalıdır; **kesinlikle ayrı sayfalarda olmamalıdır**. Konuyla ilgili olarak C.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurul yönergesi okunmalıdır.