

C. Ü.  
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NE BAŞVURAN  
AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (FMF) HASTALARINDA  
MEFV GEN MUTASYON SIKLIĞI

**Binnur KÖKSAL**  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
2007

**C. Ü.**  
**TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NE BAŞVURAN AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (FMF)**  
**HASTALARINDA MEFV GEN MUTASYON SIKLIĞI**

**Binnur KÖKSAL**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Musa SARI**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Musa SARI

Üye: Doç. Dr. Naci DEĞERLİ

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

../.../2007

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05. 01. 1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30. 12. 1993 tarihinde C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğünce hazırlanan ve yayımlanan “Yüksek Lisans ve Doktora tez yazım kılavuzu” adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

**İÇİNDEKİLER**

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	i
<b>ÖZET</b>	ii
<b>SUMMARY</b>	iii
<b>TEŞEKKÜR</b>	iv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vi
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	vii
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Tarihçe ve Epidemiyoloji	1
1.2. FMF’ de Klinik Bulgular	2
1.2.1. Ateş	2
1.2.2. Abdominal Bulgular	2
1.2.3. Eklem Bulguları	2
1.2.4. Torasik Bulgular	3
1.2.5. Cilt Bulguları	3
1.2.6. Kas Bulguları	3
1.2.7. Vaskülit	3
1.3. FMF’ de Laboratuar Bulguları	3
1.4. Tanı	4
1.5. Ayırıcı Tanı	7
1.6. Genetik Açıdan FMF	7
1.7. Patogenez	10
1.8. Amiloidozis	12
1.9. Tedavi	13
<b>2. MATERYAL VE METOD</b>	<b>16</b>
2.1. Hasta Grubu	16
2.2. DNA İzolasyonu	17
2.2.1. Kan Dokusundan DNA İzolasyonu Protokolü	17
2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	18
2.4. Agaroz Jel Elektroforezi	18
2.5. Revers Hibridizasyon	18
2.5.1. Revers Hibridizasyon Basamakları ve Kullanılan Solüsyonlar	19

2.5.2. Striplerin Değerlendirilmesi	19
2.6. İstatistiksel Analiz	20
<b>3. BULGULAR</b>	<b>23</b>
3.1. Genetik Veriler	23
3.2. Klinik Veriler	27
3.3. Genotip-Fenotip ilişkisi	28
3.3.1. M694V Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi	28
3.3.2. M680I (G/C) Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi	30
3.3.3. E148Q Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi	31
3.3.4. Tekli ve Birleşik Mutasyonların Klinik Parametreler Açısından Karşılaştırılması	32
<b>4. TARTIşMA VE SONUÇ</b>	<b>33</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>37</b>
<b>6. ÖZGEÇMİş</b>	<b>44</b>

**ÖZET****YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tezin Adı:** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran ailevi Akdeniz ateşi (FMF) hastalarında MEFV gen mutasyon sıklığı

Binnur KÖKSAL

Cumhuriyet Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Yrd. Doç. Dr. Musa SARI

Ailevi Akdeniz ateşi (FMF) en yaygın periyodik ateş sendromudur ve kendiliğinden iyileşen ateş ve serozitis ile karakterizedir. Otozomal resesif şekilde kalıtılır, başlıca Yahudiler, Türkler, Araplar ve Ermeniler olmak üzere belirli etnik grupları etkiler. FMF, pirin proteinini kodlayan MEFV geni üzerindeki mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. Farklı hastalarda farklı şiddetlerde FMF bulguları görülebileceği ortaya konmuştur. Hasta bireylerde gözlenen klinik tabloların çeşitli olması, hastalığa neden olan gen üzerindeki farklı mutasyonların etkisi ile ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmada C.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na FMF ön tanısı ile başvuran 200 hasta 12 MEFV gen mutasyonu açısından strip test tekniği kullanılarak taranmıştır. Hastaların 127'sinde (%63.5) tekli veya birleşik mutasyon saptanmıştır. Mutant bireyler içindeki homozigot oranı %10.25, bir veya daha fazla mutasyon için heterozigot bireylerin oranı ise % 89.75 olarak bulunmuştur. Taranan 200 bireydeki taşıyıcı sıklığı ise %57 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca hastalardan elde edilen klinik veriler ışığında M694V, M680I (G/C) ve E148Q mutasyonları ve birleşik mutasyonların klinik bulgularla ilişkisi analiz edilmiştir.

Çalışma sonucunda M694V mutasyonu tüm mutasyonların %37'sini, E148Q %23'ünü ve M680I (G/C) ise %18.5'ini oluşturduğu saptanmıştır. M694V mutasyonuna sahip hastalarda amiloidoz (P= 0.000), karın ağrısı (P=0.05) ve tekrarlı ateşe (P= 0.001) anlamlı olarak daha sık rastlanmıştır.

Bu çalışmada farklı etnik gruplarda yapılan pek çok genotip-fenotip uyumu araştırmalarının sonuçları ile paralel olarak çalışma grubunda en sık mutasyonun M694V olduğu (%37) ve bu mutasyona sahip hastalarda hastalığın daha şiddetli klinik bulgulara yol açtığı ayrıca amiloidoza yatkınlığın arttığı gösterilmiştir. FMF taşıyıcı oranının 1/5 olarak hesaplandığı ve yakın akraba evliliklerinin çok yaygın olduğu toplumumuzda sonraki nesillerin sağlıklı olabilmesi için geniş toplum taramaları ile taşıyıcı ve hasta bireylerin saptanması, uygun danışmanlık hizmetleri verilerek bir sonraki kuşakta mutasyon frekansının düşürülmesinin çok büyük önem arz ettiği sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** ailevi Akdeniz Ateşi, genotip-fenotip uyumu, amiloidozis, MEFV gen mutasyonları, pirin

**SUMMARY****MSc Thesis**

**Name of Thesis:** MEFV gene mutation frequency in patients with familial Mediterranean fever (FMF) who applied to Cumhuriyet University Medical Faculty Hospital

Binnur KÖKSAL

Cumhuriyet University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

**Supervisor:** Asst. Prof. Musa SARI

Familial Mediterranean fever (FMF) is the most frequent hereditary inflammatory disease and characterized by self-limited recurrent attacks of fever and serositis . It is transmitted in an autosomal recessive pattern and affects certain ethnic groups mainly Jews, Turks, Arabs, and Armenians. FMF is caused by mutations in MEFV gene, which encodes pyrin. A wide variation in severity of FMF has been noted in different patients. This variable presentation of the disease has been related to the influence of different mutations in the disease-causing gene.

In this study, 200 patient who applied to C.U. Medicine Faculty Medical Genetics Department with FMF pre-diagnosis were screened for 12 MEFV gene mutations using strip test technique. In 127 patients, single or combined mutations were detected. Homozygote rate in mutant patients were found as 10.25 % and heterozygote rate were found as 89.75%. The carrier frequency in 200 patients were calculated as 57%. Furthermore, correlation in between M694V, E148Q, M680I (G/C), combined mutations and phenotype were analysed based on clinical data obtained from patients.

As a result M694V mutation 37% of total mutations, E148Q of 23 % and M680I (G/C) of 18,5% were included. In the patients who bearing M694V mutation amiloidosis (P= 0.00), abdominal pain (P=0.05) and recurrent fever ( P=0.001) were significantly and frequently found.

This study was correlated with the other studies which were carried out on genotype-phenotype correlations and results indicated that the most frequent mutations was M694V (37%) and patients bearing this mutation had more severe clinical symptoms as well as tendency to amiloidosis were increased. Although diagnosing of FMF disease depend upon clinical data, in order to decrease this disease among public the genetic diagnosis and genetic consulting is essential for FMF patients and carriers.

**Key words:** Familial Mediterranean Fever, genotype-phenotype correlation, amiloidosis, MEFV gene mutations, pyrin



## TEŞEKKÜR

Bu tez için tüm laboratuvar imkânlarını seferber eden ve çalışma boyunca desteğini hiç esirgemeyen Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e, danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Musa SARI'ya, istatistiksel analiz boyunca bana sabırla yardım eden Yrd. Doç. Dr. Naim NUR'a;

Başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan SEZGİN olmak üzere tüm C.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına;

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Ali Fazıl YENİDÜNYA'ya ve Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK'e;

Evlatları olmaktan onur duyduğum annem Pervin KÖKSAL'a, babam Vahap KÖKSAL'a ve kardeşlerime;

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle...

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 1. MEFV geni ve sık rastlanan MEFV mutasyonları.....	8
Şekil 2. TRIM ailesi proteinlerin yapısının şematik gösterimi.....	9
Şekil 3. Pirin proteininde alt birimlerin şematik gösterimi.....	10
Şekil 4. Pirin ve kaspazın etkileşim modeli. M694V ve M680I bağlanma yüzeylerinde bulunmaktadır.....	11
Şekil 5. ASC aracılıklı kaspaz-1 oligomerizasyonunda pirinin rolü.....	12
Şekil 6. Araştırmada kullanılan stripin genel görünüşü, mutasyon ve yabancı tip gen bölgelerinin strip üzerindeki yerleşimleri.....	21
Şekil 7. Çalışmada çıkan her mutasyon tipine ait strip örnekleri.....	22
Şekil 8. Saptanan mutasyon tiplerinin sayı ve yüzdelerinin grafik olarak gösterimi.....	24
Şekil 9. Saptanan her bir mutasyonun tüm mutasyonlar içindeki yüzdesi.....	26
Şekil 10. Hasta grubunda saptanan her bir klinik parametrenin yüzdesi.....	28

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. FMF’de genetik teşhise yaklaşım.....	6
Tablo 2. Hasta grubunda taranan mutasyonlar, mutasyonların bulunabilecekleri ekzonik birimler, gen üzerindeki sırası ve strip testler için dizi özgüllükle.....	20
Tablo 3. Hastalarımızda gözlenen mutasyon tipleri ve dağılımları.....	23
Tablo 4. Çalışılan mutasyonların 200 hastada bulunma sıklığı ve yüzdesi ve 400 alleldeki yüzdesi.....	25
Tablo 5. Çalışılan hasta grubunda değerlendirilen klinik parametrelerin dağılımları.....	27
Tablo 6. Tell-Hashomer kriterleri dışında en sık rastlanan klinik bulgular.....	27
Tablo 7. Apandisit ameliyatı geçirmiş hastalarda gözlenen mutasyonlar.....	28
Tablo 8. M694V mutasyonunun FMF hastalarında çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi...29	
Tablo 9. M680I (G/C) mutasyonunun FMF hastalarında çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi.....	30
Tablo 10. Heterozigot M694V ve heterozigot E148Q mutasyonlarının klinik parametreler açısından incelenmesi.....	31
Tablo 11. Çalışma grubunda tek tip ve birleşik mutasyonların çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi.....	32

**KISALTMALAR**

sIL-2R.....	Çözünmüş interlökin-2 reseptörü
IL.....	İnterlökin
IFN.....	İnterferon
SSCP.....	Tek zincir konformasyon polimorfizmi
RFLP.....	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
PFAPA.....	Periyodik ateş- farenjit- aftöz somatit- adenopati sendromu
TRAPS.....	Tümör nekroziz faktör reseptör nedenli periyodik sendrom
HIDS.....	Hiper Ig D Sendromu
TRIM.....	Tripartite motif protein ailesi
CRP.....	C-Reaktif Protein
ASC.....	CARD motif içeren nokta benzeri apoptozis proteini
PYD.....	Pirin motifi
LPS.....	Lipopolisakkarit
SAA.....	Serum amiloid A
PCR.....	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
FMF.....	Ailevi Akdeniz Ateşi
MEFV.....	Ailevi Akdeniz ateşi geni( <u>ME</u> ditranean <u>Fe</u> Ver)

## 1. GİRİŞ

Ailevi Akdeniz ateşi (FMF) kalıtsal periyodik ateş sendromlarının en yaygın olanıdır (Grateau 2004). Başlıca Yahudi, Ermeni, Türk ve Araplar gibi Akdeniz kökenli topluluklarda görülmektedir. Yüksek ateş, seröz zarların ağırlı infeksiyonel olmayan yangı nöbetleri ve zamanla amiloidoz gelişimi ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (Erdoğan ve Öner, 2002; Koşan, 2003; Kastner, 2005).

### 1.1. TARİHÇE VE EPİDEMİYOLOJİ

Hastalık ilk kez 1908 yılında Janeway ve Rosenthal tarafından, 16 yaşında, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve lökositozu olan Yahudi bir kızda “paroksimal bir hastalık” olarak bildirilmiştir (Janeway ve Rosenthal, 1908). Siegal (1945) kendisinde ve 10 Ashkenazi Yahudisi’nde aynı tabloyu saptamış ve “Benign Paroksimal Peritonitis” olarak yayınlamıştır. 1948 yılında Reiman “Periyodik hastalık” tanımlamasını kullanmıştır. 1951 yılında ilk kez Catton ve Mamou hastalığın ailevi olduğuna dikkati çekmişler ve 1956 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir (Örün ve Yalçınkaya, 2003). 1960’larda Sohar ve ark. hastalığı ayrıntılı olarak tanımlamış ve “ailevi Akdeniz ateşi” (familial Mediterranean fever) ismini önermişlerdir (Sohar ve Ark., 1961). 1972 yılında kolşisinin hastalık ataklarını ve amiloidozu önlediği gösterilmiştir (Goldfinger,1972). 1997 yılında Uluslar Arası FMF Konsorsiyumu ve Fransız FMF Konsorsiyumu birbirlerinden bağımsız olarak FMF geni MEFV’ nin (Mediterranean FeVer) 16. kromozomun kısa kolunda olduğunu bildirmişlerdir (The French FMF Consortium, 1997; The International FMF Consortium, 1997). MEFV geni ve taşıdığı mutasyonlarının ortaya çıkması üzerine FMF’in yaygın olduğu pek çok ülkede MEFV gen mutasyonlarının fenotipe etkisi araştırılmıştır. Hastalığı meydana getiren moleküler mekanizma halen tam anlamıyla çözülebilmiş değildir.

Ailevi Akdeniz ateşi genellikle Doğu Akdeniz kökenli insanlarda, özellikle de Askenazi olmayan Yahudilerde, Ermenilerde, Araplarda ve Türklerde yaygın bir hastalıktır (Onen, 2006). Bununla birlikte İspanya, İtalya ve Yunanistan’da da bildirilmiştir (Touitou, 2001). Askenazi olmayan Yahudilerde hastalığın yaygınlığı 1/250 ve 1/500 arasındadır. Hastalığın Türklerdeki yaygınlığı 1/ 1075 ve Orta Anadolu’da ki yaygınlığı ise 1/395 olarak bulunmuştur (Onen, 2006).

Hastalığın taşıyıcı frekansı Türklerde 1/5 (Yılmaz ve Ark., 2001), Askenazi Yahudilerinde 1/11 ve Ermenilerde ve Kuzey Afrika Yahudilerinde ise 1/7 olarak bildirilmiştir (Onen, 2006).

## 1.2. FMF' DE KLİNİK BULGULAR

Hastalık başlıca karın, göğüs ve eklemleri tutan ağrılı, ateşli nöbetlerle karakterizedir. Nöbet esnasında hastalar soluk ve ağır hasta görünümündedirler. Akut ataklar arasında hastalar genellikle asemptomatikler ve rutin laboratuvar testleri esas itibarıyla normaldir. Etkilenen bölgeye bakılmaksızın atakların genel özellikleri çok benzerdir; semptomların hızla oluşması kısa sürmesi (6 saat-4 gün), yüksek ateş ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), dayanılmaz ağrı, kendiliğinden iyileşme ve tam düzelme olması karakteristiktir. Genel olarak atakları başlatan spesifik bir sebep bulunmazken, bazı hastalarda mensturasyon, duygusal stres, yoğun fiziksel aktivite tetikleyici faktörlerdir (Koşan, 2003).

Hastalık %90 hastada 20 yaş, %80 hastada ise 10 yaş altında başlamaktadır. Ortalama başlangıç yaşı ise 4 -5 yaştır. Bununla birlikte Nakhaei ve Ark. (2005) 4. ayından itibaren karın ağrısı ve ateş atakları geçiren bir bebeğe FMF tanısı koymuş ve moleküler olarak doğrulamışlardır.

### 1.2.1. Ateş

Hastaların ortalama %90'ında görülür. FMF'de atak süresince ateş genellikle  $38^{\circ}\text{C}$  den yüksektir. Birkaç saatten 4 güne kadar yüksek kalabilir fakat genellikle 24 saatte düşer. Kolşisin kullanan hastalarda nöbetlerin ateş boyutu yaşanmayabilir (Erdoğan ve Öner, 2002; Koşan, 2003).

### 1.2.2. Abdominal Bulgular

En sık rastlanan bulgudur ve hastaların %95'inde görülür. Karın ağrısı şiddeti aynı hastada nöbetten nöbete değişebileceği gibi, hastadan hastaya da değişir. Aseptik serozite bağlı olarak oluşan karın ağrısı bazen karının bir bölgesinden kaynaklanırsa tüm karına da yayılabilir. Karın ağrıları en sık akut batın tablosu ile karışabilir. Bu nedenle hastaların %30-40'ında laparoskopi, appendektomi ya da kolesistektomi uygulanabilir. Karın ağrısı genellikle 24-48 saat sürer nadiren 3 haftaya kadar uzayan olgular saptanmıştır (Erdoğan ve Öner 2002; Koşan 2003).

### 1.2.3. Eklem Bulguları

Eklem atakları, FMF'in önemli bir özelliğidir ve sık (%75) görülür. Ataklar küçük travmalar veya uzun süreli egzersizlerle tetiklenebilir. FMF' de görülen klasik eklem tutulumu akut monoartrit şeklinde olup genellikle alt ekstremitelerin büyük eklemleri ( ayak bileği, diz, kalça) tutulur. Ateş eşlik eder, birkaç gün, en fazla bir ay sürer ve kendiliğinden düzelir. Hastalardan alınan sinovyal sıvı örneği bulanık, viskozitesi azalmış ve nötrofillece zengindir. Gram boyama ve kültür sonuçları negatiftir (Erdoğan ve Önder, 2002; Koşan, 2003).

#### 1.2.4. Torasik Bulgular

Ailevi Akdeniz ateşinde plöreziye bağlı oluşan göğüs ağrısı sıklığı %25-80 olarak bildirilmektedir. Genellikle tek taraflı, solunumu güçleştiren, hastanın yüzeysel solumasına neden olan bir göğüs ağrısı meydana gelmektedir. Göğüs ağrısı atakları gösteren hastaların büyük bir bölümünde çekilen akciğer grafisinde plevral efüzyon saptanır. Bazı hastalarda göğüs ağrısı ataklarına perikardit tablosu neden olabilir. Perikardit FMF'li hastaların %5'inde rapor edilmiştir (Örün ve Yalçınkaya, 2003).

#### 1.2.5. Cilt Bulguları

FMF'in karakteristik cilt lezyonu erizipel benzeri eritem olup vakaların %30-46'sında görülür. Genellikle diz ile ayak bileği arasında, ayak sırtında keskin kenarlı, sıcak, hassas, şiş, kırmızı plaklar ile kendini gösterir. Unilateral veya simetrik olabilir. Cilt biyopsisinde dermiste ödem, hiperemi, nötrofil infiltrasyonu görülür (Erdoğan ve Öner, 2002; Koşan, 2003).

#### 1.2.6. Kas Bulguları

FMF'de çeşitli sebeplere bağlı olarak adale tutulumu ortaya çıkabilir. Kısa veya uzamış febril adale atakları, egzersize bağlı baldır ağrısı, fibromiyaloji, kolşisin mitopatisi başlıca sebeplerdir. Ateş bulunmaz ve hastanın subjektif şikâyetlerini destekleyecek fiziksel veya laboratuvar bulgusu yoktur. Kas tutulumuna ait bulgular hastaların % 30-40'ında ortaya çıkabilir (Erdoğan ve Öner, 2002; Koşan, 2003).

#### 1.2.7. Vaskülit

FMF hastalarında en sık görülen vaskülit tipleri poliarteritis nodosa (PAN), Henoch-Schonlein purpura (HSP) ve Protracted febril miyalji (PFM). FMF hastaları içinde PAN sıklığı %1, HSP'nin sıklığı %5 dir ve vaskülit sıklığı FMF hastalarında genel popülasyondan fazladır (Gurman ve Ark., 2006).

FMF'de belirlenmiş klasik bulguların yanı sıra sık olmasa da tanıya götürebilecek spesifik bulgular görülebilir. Bu bulgular skrotal inflamasyon, nörolojik belirtiler ve splenomegali olarak sayılabilir (Örün ve Yalçınkaya, 2003).

### 1.3. FMF' DE LABORATUAR BULGULARI

Ailevi Akdeniz ateşinin klinik olarak hiçbir spesifik biyolojik belirteçi yoktur. Hastalar serozal sıvılarda normalinde bulunan ve hem interlökin-8 hem de kemotaktik komplement faktör 5-a inhibitörünü inaktive eden spesifik bir proteazdan yoksundur. Fakat bu proteaz için yapılan

testler yalnız araştırma amaçlı kullanılır. Non spesifik bulgular febril ataklar boyunca serum amiloid A, fibrinojen ve C-reaktif protein gibi akut faz reaktanlarının artışlarını kapsar (Joost ve ark, 2001; Korkmaz ve ark., 2002). FMF hastalarında çözünmüş interlökin-2 reseptör ( sIL-2R) düzeyi atak periyodunda, iki atak arasındaki periyoda göre daha yüksektir. Ayrıca iki atak arası periyotta interlökin-10 (IL-10 düzeyi) düşer. Azalmış IL-10 seviyesi iki atak arası periyotta daimi bir subklinik immün aktivasyona yatkınlık meydana getirebilir ( Musabak ve Ark., 2004). Pro-inflamasyon sitokinleri olan interlökin-17 (IL-17) ve interlökin-18 (IL-18) düzeyleri de FMF atakları esnasında artmaktadır (Haznedaroğlu ve ark., 2005). FMF hastalarında interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) düzeyi normal bireylere göre daha yüksektir ayrıca FMF atakları boyunca anlamlı derecede artmaktadır (Koklu ve ark., 2005).

#### 1.4. TANI

Ailevi Akdeniz ateşinin tanısında karakteristik klinik özellikler, aile öyküsü, kolşisine cevap ve moleküler tarama temel teşkil eder. Atak sırasında sedimantasyon, C-reaktif protein, fibrinojen, heptaglobülin, C3, C4 gibi akut faz reaktanlarının artışı da klinik tablo ile birlikte FMF tanısı koymaya yardımcı unsurlardır (Onen, 2006).

FMF'in tanısı için değişik kriterler geliştirilmiş olup en sık olarak Tell-Hashomer kriterleri kullanılmaktadır.

Tell- Hashomer tanı kriterleri majör kriterler ve minör kriterler olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır:

##### *Tell-Hashomer majör FMF kriterleri;*

- 1- Peritonit, sinovit veya pleurit ile beraber tekrarlayan febril ataklar,
- 2- Predispoze hastalık olmadan amiloidoz tip AA,
- 3- Kolşisin tedavisine iyi cevap,

##### *Tell-Hashomer minör FMF kriterleri;*

- 1- Tekrarlayan ateş atakları,
- 2- Erizipel şeklinde eritem,
- 3- Birinci derece akrabalarda FMF öyküsü.

Hastada 2 majör veya 1 majör ve 2 minör kriterin mevcut olması durumunda kesin tanı, 1 majör ve 1 minör kriterin bulunmasında ise muhtemel tanı koyulur ve hastanın kolşisine cevap verip vermemesine göre kesin tanıya gidilir (Erdoğan ve Öner, 2002).



Hastaların %5'inin kolşisine zayıf cevap vermeleri FMF tanısını ekarte etmez ve böylece kolşisine cevap FMF tanısını destekleyen bir test olabilir. Bununla birlikte tek başına kolşisine cevap da majör bir kriter sayılamaz. Çünkü gut veya Behçet hastalığı gibi hastalıklar da bu tedaviden fayda görürler. Bu nedenle Livneh ve Ark. kolşisinin minör bir bulgu olarak yer aldığı ve Tell-Hashomer kriterlerine göre daha kapsamlı bir tanı kriteri seti oluşturmuşlardır (Livneh ve Ark., 1997; Livneh ve Ark., 2000).

Livneh ve Ark.'nın önerdiği FMF tanı kriterleri majör kriterler, minör kriterler ve destekleyici kriterlerden meydana gelmektedir:

*Livneh ve ark. 'nın major FMF kriterleri;*

- 1- Yaygın peritonit,
- 2- Plörit (tek taraflı) veya perikardit,
- 3- Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği),
- 4- Yalnız ateş ( Rektal ısının olmaması),
- 5- Eksik (inkomplet) abdominal ataklar.

1, 2, 3 ve 4. kriterler tipik ataklardır. Tipik ataklar her seferinde aynı karakterdedirler, atak süresi 12–72 saattir ve ateş 38°C'den yüksektir. Eksik ataklar ise vücut ısısının 38°C'nin altında olması, atak süresinin tipik atak süresinden daha uzun veya daha kısa olması, abdominal atak boyunca peritoneal bulguların bulunmaması, lokalize abdominal ağrıların bulunması ve spesifik eklemlerden başka eklemleri tutan artrit özelliklerinden biri veya ikisi bakımından tipik ataklardan farklı ataklardır.

*Livneh ve Ark. 'nın minör FMF kriterleri;*

- 1- İnkomplet göğüs atakları,
- 2- İnkomplet artrit atakları,
- 3- Egzesizle bacak ağrısı,
- 4- Kolşisine iyi cevap.

*Livneh ve Ark. 'nın destekleyici FMF kriterler;*

- 1- Ailede FMF öyküsü,
- 2- Etnik köken,
- 3- Atakların 20 yaşından önce başlaması,
- 4- Atağın ciddi yatak istirahati gerektirmesi,
- 5- Atakların kendiliğinden geçmesi,
- 6- Ataklar arası semptom olmaması,
- 7- Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri,

8- Gereksiz laparotomi veya apendektomi hikâyesi,

9- Akraba evliliği.

Livneh ve Ark.'nın öne sürdüğü tanı kriterlerine göre kesin tanı için 1 majör kriter, en az 2 minör kriter, 1 minör ve 5 destekleyici kriter veya 1 minör ve destekleyici kriterlerden ilk dördü seçeneklerinden biri gerekmektedir.

FMF' in genetik tanısında tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP), revers-hibridizasyon esasına dayalı testler (Strip testler) veya doğrudan dizi analizi gibi yöntemlerden herhangi biri kullanılabilir. Klinik tanı kesinse, genetik tanı ne olursa olsun, tanı değişmemekte ve tedaviye devam edilmektedir. Genetik tanı özellikle klinik tanının şüpheli olduğu durumlarda önemlidir. Aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyon saptanması düşük penetrasyonlu bir mutasyona veya preklinik safhada olan bir hastanın erken saptanmasına bağlı olabilir. Bazı araştırmacılar klinik herhangi bir belirti olmasa da kötü prognozu gösteren M694V mutasyonuna sahip hastaların tedavi edilmesini önerirler (Erdoğan ve Öner, 2002).

**Tablo1.** FMF'de genetik teşhise yaklaşım (Erdoğan ve Öner, 2002)

Klinik teşhis sonucu	Genetik teşhis sonucu	Final teşhis	Tedavi kararı
Kesin FMF	Homozigot mutant, Heterozigot mutant, Mutant olmayan	Kesin FMF	Kolşisin
Şüpheli FMF	Homozigot mutant	Kesin FMF	Kolşisin
	Heterozigot mutant, Mutant olmayan	Şüpheli FMF	Takip ve Terapatik çalışma
FMF (-)	Homozigot mutant	Preklinik veya Düşük penetrans	Klinik ve proteinüri takibi
	Heterozigot mutant, Mutant olmayan	Taşıyıcı FMF (-)	Takip ve tedavi (-)

FMF tanısı daha çok klinik belirtilere dayalı olarak koyulsa bile taşıyıcılık oranının yüksekliği nedeniyle hasta yakınlarının mutlaka FMF mutasyonları açısından taranması gerekmektedir. FMF hasta ve taşıyıcılarının evlenecekleri kişilerin de FMF mutasyonları açısından taranması önem taşımaktadır. Test sonuçlarına göre genetik danışma alınması preimplantasyon genetik tanı ya da prenatal tanı yoluyla bebek sahibi olunması önerilmektedir.

### 1.5. AYIRICI TANI

FMF'in ayırıcı tanısı geniş bir hastalık grubunu kapsamaktadır. Bunlar periyodik ateş sendromları (PFAPA, TRAPS, HIDS) ve FMF'e benzer olan diğer hastalıklardır.

PFAPA ( Periyodik ateş- aftöz somatit- farenjit- adenopati sendromu) yüksek ateşin eşlik ettiği aftöz somatit, farenjit, servikal adenit, baş, abdomen ve eklem ağrısı ile karakterize bir hastalıktır. PFAPA atakları 4–5 gün sürer ve kendiliğinden iyileşir. Ateşin 40,5° C' ye çıktığı ataklar 4-6 haftada bir tekrarlar. Muayenede kızamık farenks, büyümüş tonsiller ve ağızda ülser görülür (Padeh, 2005). Bu hastalığın FMF' den ayrımı karakteristik bulgularının boğazda tekrarlayıcı tarzda görülmesi, kolşisine cevapsızlık ve prednizolona dramatik cevap vermesine dayanır (Koşan, 2003).

TRAPS (tümör nekrozis faktör reseptör nedenli periyodik sendrom) otozomal dominant kalıtılan bir periyodik ateş sendromudur. Ateş, abdominal ağrı, hassas cilt lezyonları ve miyalji ile karakterizedir. İrlanda ve İskoçya asıllılarda yaygındır. Hastalık hafif tarzda seyrederek fakat daha sonra sekonder amiloidoz gelişimi gözlenir (Padeh, 2005). Tutulan kasta şiddetli ağrı, genellikle 1 haftadan uzun süren ataklar, gezici erizipel şeklinde eritem, konjonktivit ve periorbital eritem bu hastalığı FMF' den ayıran başlıca özelliklerdir (Koşan, 2003).

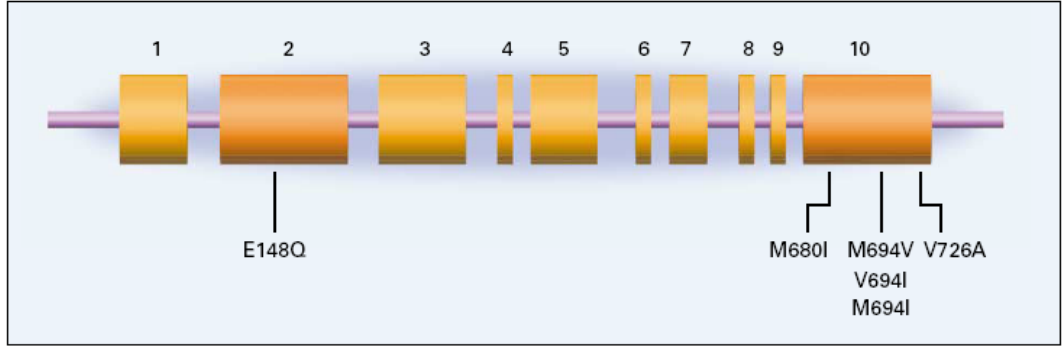
HIDS' lu (Hiper Ig D sendromu) hastalar hayatlarının ilk bir senesinden itibaren tekrarlı ateş atakları geçirirler. Ataklar titreme ile başlar, vücut ısısı hızlı bir şekilde artar ve atak 4–8 gün sürer (Joost, 2001). Otozomal resesif olarak kalıtılır. Kendiliğinden iyileşme, abdomen ve eklem bulguları ile FMF' e benzer. Avrupalılarda yaygın olarak bulunması, yüksek Ig D düzeyi ve servikal lenf nodlarının tutulması ile FMF' den ayrılır (Vinceneux ve Pouchot, 2005).

Behçet hastalığı artrit, karın ağrısı ve epididimit ile birlikte epizodik bir ateşli hastalık seyri gösterebilir. FMF' den farklı olarak, Behçet hastalığında karakteristik tekrarlayan oral ve genital ülserler, üveit, püstüloz, eritema nodozum bulunması, atakların daha uzun sürmesi, oligoartrit varlığı ve belirsiz karın ağrısıdır ( Koşan, 2003).

### 1.6. GENETİK AÇIDAN FMF

Pras ve Ark. (1992) pozisyonel klonlama çalışmalarıyla ailevi Akdeniz ateşinden sorumlu genin (MEFV) tüm etnik gruplarda 16. kromozomun p kolunda olduğunu bulmuşlardır. 1997 yılında Uluslararası FMF konsorsiyumu ve Fransız FMF konsorsiyumu genin tam lokalizasyonunu 16p13.3 olarak bildirmişlerdir (The French FMF Consortium, 1997; The International FMF Consortium, 1997).

MEFV geni başlıca granüositlerde, sitokin tarafından aktive edilen monositlerde, serozal ve sinovyal fibroblastlarda eksprese edilir (Centola ve Ark, 2000). MEFV üzerinde 140 mutasyon tanımlanmıştır. Bir anlamsız (nonsense) mutasyon (Notarnicola ve Ark, 2001), üç delesyon ve iki insersiyon dışında tüm mutasyonlar yanlış anlamlı mutasyonlardır (Touitou ve Ark., 2004). Mutasyonların çoğu 3' ucuna yakın (Ekzon 10) kümelenmişlerdir. Fransız FMF konsorsiyumu (1997) 10. ekzondaki 4 missense mutasyonun ( M694V, M680I, V726A ve M694I) hasta grubunun %85'ini oluşturduğunu bildirmişlerdir.



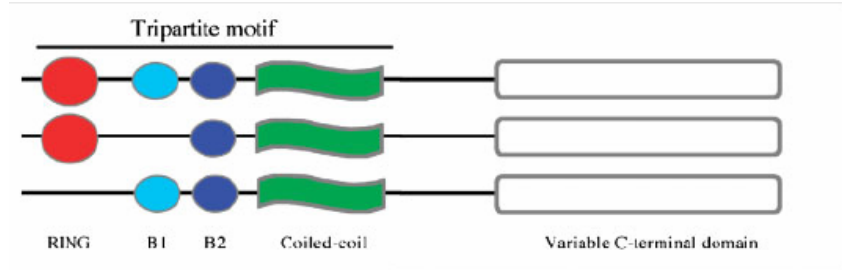
Şekil 1. MEFV geni ve sık rastlanan MEFV mutasyonları (Joost ve Ark, 2001)

MEFV geni ekspresyonu pro-inflamasyon ajanları interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), tümör nekrozis faktör ve lipopolisakkaritler tarafından uyarılırken, yangı önleyici sitokinler olan interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-10 (IL-10) tarafından inhibe edilir. IFN- $\gamma$  tarafından uyarım hızlı bir şekilde gerçekleşir. İnterferon - $\alpha$  da MEFV genini uyarır. Granüositlerde MEFV ekspresyonu IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$  ve kolşisin kombinasyonu tarafından düzenlenir (Centola ve Ark., 2000; Maltzner ve Ark., 2000).

Notarnicola ve Ark. (2002) MEFV mRNA düzeyinin FMF'li hastalarda normal bireylere göre daha düşük olduğunu ve ayrıca FMF'li hastalar içinde de M694V gibi şiddetli klinik tabloya neden olan mutasyonlarda daha dramatik bir şekilde azaldığını göstermiş ve FMF fizyopatolojisinin MEFV mRNA ifadesinin oransal eksikliğine bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

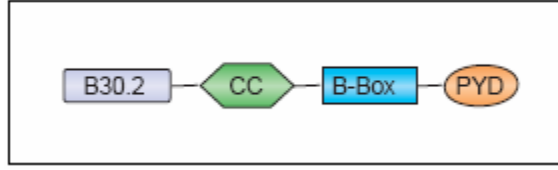
MEFV geni 781 amino asitlik ve 86 000 moleküler kütleli pirin (marenostri) proteinini kodlar (Joost ve ark., 2001). Pirin sitoplazmada aktin filamentleri ile birlikte lokalize olur. Bununla birlikte pirinin alternatif kesim sonrası oluşan, ekzon 2'den yoksun bir izoformu nükleusta lokalize olmaktadır. Protein üzerindeki hiçbir mutasyon proteinin hücre içi lokalizasyonu etkilememektedir (Mansfield ve Ark., 2001; Cazeneuve ve Ark., 2003).

Pirin, TRIM (RBCC) protein ailesine dâhildir. TRIM (Tripartite motif) familyası proteinler bir RING alt birimi, B-kutusu (B-box) olarak adlandırılan bir veya iki çinko bağlayıcı alt birim ve bir yumaksı sarmal (coiled-coil) alt birim olmak üzere üç alt birime sahiptirler (Meroni ve Diez-Roux, 2005). RING alt birimi sisteince zengin, çinko bağlayan bir alt birimdir. RING proteinler onkogenezis, apoptozis, viral replikasyon ve hücre döngüsünün kontrolü gibi pek çok hücrel olayda görev alırlar. B-box alt birimi sistein ve histidine zengindir ve çinko içerir. Yumaksı sarmal bölgesi TRIM proteinlerinin homooligomerizasyonunu sağlar. TRIM ailesi proteinlerde yumaksı sarmal bölgesi B30.2, NHL veya ARF (ADP ribozilasyon faktör) gibi bir C-terminal dizisi tarafından izlenir.



Şekil 2. TRIM familyası proteinlerin yapısının şematik gösterimi (Meroni ve Diez-Roux, 2005)

Pirin (TRIM 20) TRIM ailesinin RING alt birimi içermeyen atipik bir üyesidir. Bununla birlikte B-kutusu, yumaksı sarmal ve B30.2 alt birimlerini içerir. B30.2 alt birimi ( PRYSPRY, rfp) pirinin C-terminalinde yaklaşık 200 amino asitlik bir alt birimdir ve protein-protein etkileşimlerine aracılık eder. Pirinin N-terminalindeki yaklaşık 90 amino asitlik bölgesi PYRIN, PYD, PAAD veya DAPIN olarak adlandırılmaktadır ve FMF hastalarında nadiren mutanttır ( Chae ve Ark., 2006; Stehlik ve Reed, 2004). PYD alt birimi ölüm domeini (DDs), ölüm efektör domeini (DEDs) ve CARDs içermektedir. DD, DED ve CARD domeinleri apoptozis ve yangıda görev alan, protein-protein etkileşiminden sorumlu alt birimlerdir (Fairbrother ve Ark., 2001).



**Şekil 3.** Pirin proteininde alt birimlerin şematik gösterimi

### 1.7. PATOGENEZ

FMF’ de en belirgin özellik serozal bölgelere lökosit göçüdür. Yabani tip pirin, çeşitli tetikleyici faktörlerle serozal hasar oluştuğunda, yangıya neden olan inflamatuvar araçların (IL-8, Cox-2) salınımını, mikrotübül aktivasyonunu ve adezyon molekül ekspresyonunu inhibe ederken, yangı önleyici araçların (C5a inhibitör, lipokortin-1) salınımını artırarak lökosit göçünü kontrol eder ve yangının subklinik kalmasını sağlar (Erdoğan ve Ark., 2002).

Yapılan çalışmalar FMF atakları esnasında özellikle C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz reaktanlarının (Korkmaz ve Ark., 2002) ve pro-inflamasyon sitokinlerinin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Örün ve Ark. (2002) FMF hastalarında tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-6, IL-8 düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Koklu ve Ark. (2005) interferon- $\gamma$  düzeyinin FMF hastalarında normal bireylerden fazla olduğunu ayrıca ataklar esnasında önemli düzeyde arttığını göstermişlerdir. FMF hastalarında nötrofil fonksiyonlarını düzenleyen ön yangı sitokinlerinden interlökin-17 (IL-17), interlökin-18 (IL-18) (Haznedaroğlu ve Ark., 2005) ve interlökin-12 (IL-12) düzeyleri artarken, yangı önleyici bir sitokin olan interlökin-10 düzeyi azalmaktadır (Erken ve Ark., 2006). Fakat tüm bu değişiklikler FMF patolojisindeki esas bozukluklar olmaktan çok ikincil değişikliklerdir.

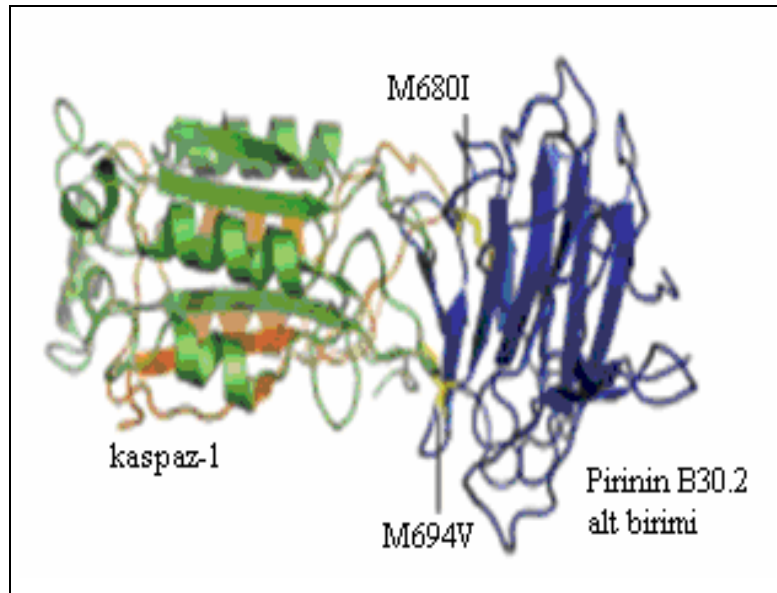
Bugün FMF patogenezi ile ilgili bilinen moleküler mekanizma yabani-tip pirinin ön yangı sitokinlerinin olgunlaşmasını baskıladığı yönündedir. Chae ve Ark. (2003) pirin<sup>-/-</sup> mutant farelerde yaptıkları çalışmalarda yabani-tip pirinin kaspaz-1’in proteolitik aktivasyonunu inhibe ederek IL-1 $\beta$  parçalanmasını regüle ettiğini ileri sürmüştür. Chae ve Ark.’ın ileri sürdüğü metabolik yolda pirin ASC proteinine bağlanmak için kaspaz-1 ile yarışır.

ASC (Apoptosis-associated speck like protein containing a CARD domain) kaspaz aktive edici bir moleküldür. N- terminal PYD ve C-terminal CARD domeini içerir. (Srinivasula ve Ark., 2002; Stehlik ve Ark., 2003). ASC inflamazom olarak adlandırılan kompleksi bir araya getirir. Bu makromoleküler kompleks ön yangı sitokinlerinin varlığında pro-kaspaz-1’i (ICE, IL-1 $\beta$

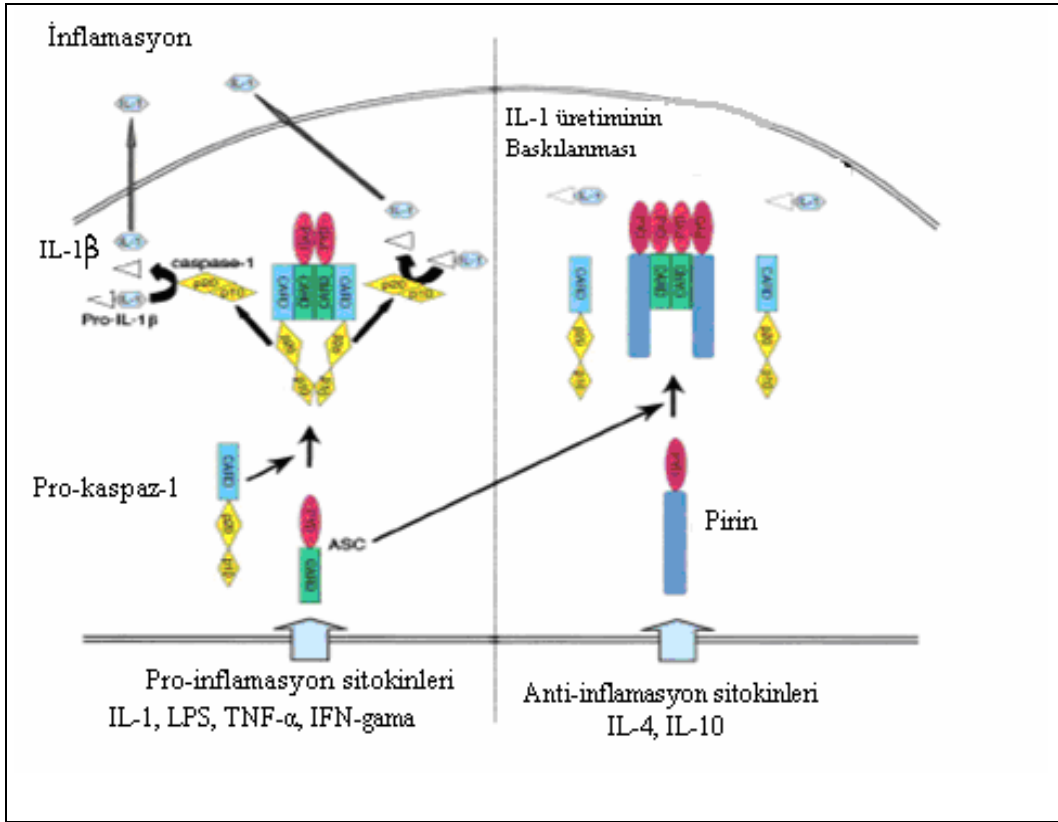
converting enzyme) aktive eder. Kaspaz-1 IL-1 $\beta$ 'nin 31kDa'luk kısmını kırarak yangı ve ateş aracısı olan 17kDa'luk aktif forma dönüştürür.

Pirin bu metabolik yolda yangı önleyici sitokinlerin uyarımı ile ASC' ye bağlanır ve pro-kaspaz-1'in aktif hale geçmesini ve IL-1 $\beta$  salınımını engeller. Mutant pirin ASC' ye bağlanamayacağından inflamasyonu engelleyemez (Chae ve Ark,2003).

Chae ve Ark. tarafından 2006 yılında yapılan başka bir çalışmada ise pirinin B30.2 alt birimiyle kaspaz-1'e doğrudan bağlanarak inaktivasyon sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca hem bu çalışmada hem de Goulielmos ve Ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada B30.2 alt biriminin üç boyutlu yapısı belirlenmiş ve ciddi hastalık fenotipiyle sonuçlanan mutasyonların (M680I ve M694V) bu alt birimin kaspaz-1 ile birleşme bölgesinde bulunduğu gösterilmiş ve böylece genotip-fenotip korelasyonuna moleküler bir boyut kazandırılmıştır.



**Şekil 4.** Pirin ve kaspazın etkileşim modeli. M694V ve M680I bağlanma yüzeylerinde bulunmaktadır (Chae ve Ark., 2006)



**Şekil 5.** ASC aracılıklı kaspa-1 oligomerizasyonunda pirinin rolü. Sol taraf: ön yangı sitokinleri ve LPS ASC'yi uyarır, ASC CARD etkileşimleri tarafından pro-kaspa-1'e bağlanarak oligomerizasyonunu ve otakatalizi başlatır. Aktif P10/p20 alt üniteleri Pro-IL-1 $\beta$ ' yı olgun IL-1 $\beta$ ' ya çevirerek ateş ve inflamasyonu başlatır. Sağ taraf: yangı önleyici sitokinler pirini indükler, pirin homotipik pirin alt üniteleri etkileşimi ile ASC' ye bağlanır ve kapaz-1 ile olan etkileşimleri bloke olur (Chae ve Ark., 2003)

## 1.8. AMİLOİDOZİS

FMF'in en ciddi ve ölümcül komplikasyonu nefropatik AA tip amiloidozistir ve tedavi edilmeyen hastaların çoğu (%90) 40 yaşına kadar amiloidoz geliştirir (Fietta, 2004). AA tip amiloidozda AA protein olarak adlandırılan amiloid protein akut faz proteinlerinin bir grubu olan serum amiloid A (SAA) proteininden türevlenmektedir (Pirson, 2003). Hasar görmüş dokularda SAA düzeyi çok fazla arttığı için (100-1000 kat) SAA'nın görevinin tamir mekanizması ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür. AA proteini SAA proteinin C-terminalinden 27 amino asitin proteolitik olarak uzaklaştırılmasıyla oluşur.

Birbirine sıkıca bağlı üç SAA geni (SAA1, SAA2, SAA4) kromozom 11 üzerinde yerleşiktir. Hepatosit, monosit ve fibroblastlarda ifade edilir. Dördüncü lokus SAA3 Yalancı



gendir (Grateau ve Ark., 2005). Dokularda depolanan AA-fibrilleri daha çok SAA1'den köken almaktadır (Kutlay ve Ark., 2006).

FMF'in nefropatik amiloidozunun son dönem böbrek yetmezliğinden önce periklinik (gizli evre), proteinürik, nefrotik ve üremik olmak üzere 4 evresi mevcuttur (Vinceneux ve Pouchot, 2005). FMF'de amiloidoz iki farklı klinik tablo şeklinde ortaya çıkar: fenotip I ve fenotip II. Fenotip I' de amiloidoz ilkin FMF belirtilerini takiben ortaya çıkar. Fenotip II ise FMF belirtilerinden önce başlayan sıra dışı bir amiloidozdur. Fenotip II amiloidozlu hastalar ve birinci derece akrabalarının FMF mutasyonları açısından taranmaları önerilmektedir (Livneh, 2006; Gingold-Belfer ve Ark., 2006).

FMF amiloidozunda böbrek dışında adrenal (adrenal yetmezlik), mide-barsak (emilim bozukluğu, ishal), dalak (splenomegali), karaciğer (hepatomegali, KCFT'de bozulma), tiroit (guatr, hipotiroidi), nadiren kalp (restriktif kardiyomiyopati, konjestif kalp yetmezliği), akciğer ve testislerde amiloid birikimi meydana gelebilmektedir (Erdoğan ve Ark., 2002).

Amiloid gelişme riski tedavi edilmeyen Kuzey Afrika Yahudileri'nde %90, Türkler'de %60 olarak bildirilmiştir. Ayrıca Ermenistan'da yaşayan Ermeniler'de amiloid gelişme riski Amerika'da yaşayan Ermeniler'den daha fazla saptanmıştır (Erdoğan ve Ark., 2002). Bu durum FMF hastalarında amiloidoz gelişiminin genetik faktörler, çevresel faktörler ve etnik kökenin birlikte katkı yaptığını ortaya koymaktadır. Çoğu genotip-fenotip ilişkisi çalışması homozigot M694V mutasyonunun amiloidoz gelişim riskini arttırdığını ortaya koymuştur (Livneh ve Ark., 1999; Minouni ve Ark., 2000; Gershoni-Baruch ve Ark., 2003;).

Amiloidozda kesin tanı, tutulan organ ya da dokudan biyopsi ile konulabilir. Tanı, böbrek ve karaciğer biyopsisi ile %80–100, submukozayı içeren rektal biyopsi ile %70–80, kemik iliği biyopsisi ile %60, abdominal yağ biyopsisi ile %40, gingiva biyopsisi ile %19 oranında koyulabilir. Amiloidoz tip AA için Kongo kırmızısı ile boyanıp polarize ışık altında incelendiğinde elma yeşili çift kırıcılık görülmesi spesifiktir (Erdoğan ve Ark., 2002).

## 1.9. TEDAVİ

Mikrotübül oluşumunu engelleyen, anti-mitotik aktiviteye sahip bir alkaloid olan kolşisin hem akut FMF ataklarını hem de amiloidozu önlemede başarıyla kullanılan tek ilaçtır (Rigante ve Ark., 2006).

FMF hastalarının tedavisi için kolşisin kullanımı ilk kez 1972 yılında Goldfinger tarafından ortaya atılmıştır. Aynı tarihte Özkan ve Ark. da FMF'in tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak kolşisin tedavisini bildirmişlerdir (Erdoğan ve Ark., 2002). 1986'da Zemer ve Ark. kolşisin amiloidozu karşı da etkili olduğunu göstermişlerdir.

Kolşisin, hastaların cevabına göre, günde 1-2mg olarak kullanılır. Renal amiloidoz gelişen hastalarda kolşisin 2mg/gün olarak kullanılmalıdır. Düzenli kolşisin tedavisine rağmen ataklar devam ediyorsa kolşisin dozu günlük 2,5–3,0mg'a çıkarılmalı ve hasta takip edilmelidir. Çocuklarda kolşisin dozu vücut ağırlığına veya vücut yüzey alanına göre ayarlanır. 1–2 yaşındaki çocuklarda minimal doz günlük 0,25mg'dır. 6–7 yaşındaki çocuklar 1mg/gün'lük tam dozla tedavi edilebilirler (Onen, 2006).

Kolşisin nötral ve yağda çözünen bir alkaloiddir. Albümine düşük, nötrofillerdeki P-glukoprotein dış pompasının yokluğu nedeniyle mikrotübüllere yüksek afinite ile bağlanır (Erdoğan ve Ark., 2002). Kolşisin farmakokinetiğinde üç protein anahtar rol oynar: kolşisin reseptörü olan tübülün (ilacın plazma eliminasyon yarı-ömrünü belirler), intestinal ve hepatik CYP3A4 (kolşisinin biyotransformasyonunda anahtar rol oynar) ve bir hücre effluks pompası olan P-glikoprotein (kolşisinin dokulara dağılmasını ve böbrekler yoluyla vücuttan atılmasını düzenler). Kolşisin başlıca ileumdan emilir, maksimum plazma konsantrasyonuna oral alımdan 0,5–2 saat sonra ulaşır, karaciğer tarafından dönüştürülür ve 20–40 saatlik bir eliminasyon yarı-ömrüne sahiptir (Niel ve Scherrmann, 2006).

Kolşisin yüksek konsantrasyonda bulunduğu nötrofil mikrotübüllerini tespit ederek yeni mikrotübüllere polimerizasyonu, hücre içi taşınımı, mitozu, yangı aracı salınımını ve kemotaksisi önler. Ayrıca membran üzerindeki adezyon moleküllerinin (endotel hücrelerinde E-selektin, nötrofillerde L-selektin) ifadesini azaltarak nötrofillerin hedef serozal dokulara bağlanmasını engeller (Erdoğan ve Ark., 2002; Rigante ve Ark., 2006).

Nötrofillerde yüksek ve indüklenemeyen MEFV ekspresyonunun aksine peritoneal fibroblastlarda MEFV ekspresyonu düşüktür ve C5a inhibitör aktivitesinin indüksiyonuyla paralel şekilde kolşisin ve sitokinlerce indüklenebilir. FMF' de sıkıntı oluşturan serozal dokular kolşisinle indüklenerek MEFV ekspresyonu arttırılabilir (Abedat ve Ark., 2002).

Kolşisinin az sayıda yan etkisi vardır; bunlar arasında gastrointestinal sisteme ait olanlar ön plana çıkmaktadır. Diare, pansitopeni, miyopati ve daha az sıklıkta da döküntü görülebilir. Diare doz azaltılmasıyla kısa sürede düzelir. Laktoz intoleransı normal populasyona göre 3 kat daha sık gözlenmektedir; laktozsuz diyet ve simetikon ile düzelir. Diğer yan etkiler olan azospermi, hafif geçici lökopeni, DIL, döküntü alopesi, anjioödem, miyopati ve periferik nöropati son derece nadirdir. 231 tamamlanmış gebeliği kapsayan bir çalışmada hamileliğinden önce ve hamileliği sırasında kolşisin tedavisi almış annelerin bebeklerinde fetal anomali sıklığında artış olmadığı saptanmıştır (Rabinovitch ve Ark., 1992). Hayvanlarda yapılan çalışmalar sonrasında kolşisinin bilinçsel fonksiyonları içeren sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri olabileceği ileri sürülmüştür. Leibovitz ve Ark. (2006) 25 yıl boyunca kolşisin kullanmış ortalama 75 yaşında 55 hastayla yapmış oldukları çalışmalar kolşisinin bilinçsel bozukluklara yol açmayacağını aksine uzun süreli kolşisin kullanımının bilinç azalmasına karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir.

Kolşisin FMF hastalarının %5-10'unda atakları kontrol altına alamamaktadır. Seyahi ve Ark. (2006) kolşisin tedavisine yanıt vermeyen 4 hastaya günlük 100mg talidomid ve 25mg etanercept tedavisi uygulamış ve abdominal atakların azaldığını göstermişlerdir. Fakat talidomidin teratojenite ve periferal nöropati gibi toksik etkileri kullanımını sınırlamaktadır. Sayarlıoğlu ve Ark. (2006) kolşisin tedavisine dirençli 3 FMF hastasına günlük olarak 100mg azatiyopirin tedavisi uygulamış ve FMF ataklarında tam iyileşme gözlemlemişlerdir. Calguneri ve Ark. (2004) kolşisin tedavisine ek olarak IFN- $\alpha$  tedavisinin kolşisine dirençli hastalarda iyileşmeye yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Amiloidoza bağlı son dönem renal yetmezliklerde (ESRD) böbrek nakli iyi bir tedavi şekli olabilmektedir. Transplantasyonun uzun dönemli sonuçları genel transplant popülasyonundakilere benzer olmaktadır ve kolşisin tedavisi almayan hastalarda amiloidoz tekrar oluşabilmektedir (Onen, 2006).

## 2. MATERYAL VE METOD

Çalışma, 2006 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine FMF ön tanısıyla sevk edilmiş 200 hasta ile gerçekleştirildi. Her hasta strip test tekniği kullanılarak 12 MEFV gen mutasyonu açısından tarandı ve FMF'e ilişkin klinik bulguları kaydedildi. Mutasyon analizi sonuçları ve klinik parametreler istatistiksel olarak değerlendirildi.

### Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

- 1) Hibridizasyon cihazı (Profiblot T48, Tecan)
- 2) Thermal Cycler (Applied Biosystems, 2720)
- 3) Kuru ısı bloğu (CHB-202, Bioer)
- 4) Santrifüj (Micro 120, Hettich)
- 5) 1000'lik, 200'lük ve 10'lük mikropipetler (Eppendorf ve Gilson)
- 6) DNA izolasyon kiti (Invitek,, Invisorb Spin Blood Kit)
- 7) FMF Strip Assay PCR ve hibridizasyon kiti (Vienna Lab)
- 8) Elektroforez (Biorad , Midi)
- 9) Güçkaynağı (Biorad)
- 10) *Taq* DNA polimeraz (Fermentas)
- 11) Ethidium Bromide (EtBr)
- 12) TAE (Tris-asetik asit-EDTA) tamponu (Applichem)
- 13) Agaroz (Nu micropor, Prona)
- 14) Otoklav indikatörü
- 15) Tüp (K3- EDTA, Vacuette)
- 16) Eppendorf tüp (1.5, 2 ve 0.2 ml, Sarstedt)
- 17) Mikropipet uçları (beyaz, sarı ve mavi, Biosphere Filter Tips)
- 18) Etil alkol (Merck)
- 19) Yükleme boyası (Fermentas)

### 2.1. Hasta Grubu

Araştırmaya C.Ü. Tıp Fakültesi Genetik Anabilim Dalı'na FMF ön tanısı ile başvuran 85 erkek ve 115 kadın olmak üzere toplam 200 hasta dahil edildi. Her hasta için tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda alınan anamnez raporlarına ek olarak, yaş, cinsiyet, karın ağrısı, eklem ağrısı, amiloidoz gelişimi, kolşisine cevap, ailede FMF öyküsü, erizipel benzeri eritem, anne-baba akrabalığı, atak sıklığı, atak süresi ve appendektomi kriterlerini içeren FMF hasta bilgi formu dolduruldu (tablo 5.). Anamnez sonrası her hastadan EDTA' lı tüp ortamına 2 ml periferik kan alındı, etiketlendi ve -20°Cde muhafaza edildi.

## 2.2. DNA İzolasyonu

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. Bunun için Invitex Invisorb Spin Blood DNA İzolasyon Kiti kullanıldı. Yaklaşık 200 $\mu$ l periferik kan dokusunun kullanıldığı teknik sonrasında 30–50 ng / $\mu$ l ultrapür genomik DNA izole edilmektedir ( $A_{260}:A_{280}$  oranı 1,7- 2 arası). İzolasyon için kullanılan 50 hastalık kit içeriği aşağıdaki gibidir;

- 1) Proteinaz K, 1ml(10 $\mu$ g/ $\mu$ l)
- 2) Liziz tamponu (Lysis Buffer A), 15ml
- 3) Bağlama tamponu (Binding Buffer B6), 30ml
- 4) Elüsyon tamponu (Elution Buffer D), 15ml
- 5) Yıkama Tamponu I, 30ml (Kullanılmadan önce 30ml %100'lük etil alkol eklenir)
- 6) Yıkama Tamponu II, 18ml (Kullanılmadan önce 42ml %100'lük etil alkol eklenir)
- 7) 2.0ml'lik toplama tüpleri, 100 adet
- 8) 1.5ml'lik toplama tüpleri, 50 adet
- 9) Filtreler, 50 adet

### 2.2.1. Kan Dokusundan DNA İzolasyonu Protokolü

Çalışmadan önce örnek sayısına yetecek kadar elüsyon tamponu (elution buffer D) 56°C'ye ısıtıldı.

Kodlaması yapıldıktan sonra 1,5'lük ependorf tüpe 200 $\mu$ l EDTA'lı kan, 200 $\mu$ l liziz tamponu (lysis buffer A) ve 20 $\mu$ l proteinaz K konuldu. Kapağı kapatılarak tüp 10 sn vortekslenildi ve 56°C'de 10dk inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası tüp ortamına 400 $\mu$ l bağlama tamponu (binding buffer B6) tüpe eklendi, 3-4 kez pipetaj yapıldıktan sonra lizatin tamamı filtreli toplama tüpüne aktarıldı. Filtre toplama tüpü daha sonra 3dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12 000rpm'de 2dk santrifüj edildi.

Filtre yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, üzerine 500 $\mu$ l yıkama tamponu 1 (wash buffer I) eklendi ve 12000rpm'de 1dk santrifüj edildi. Toplama tüpü tekrar değiştirildi, filtre üzerine 800 $\mu$ l yıkama tamponu 2 (wash buffer II) eklenerek ve 12 000rpm'de 1dk santrifüj edildi. Filtre üçüncü kez olarak 2ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, 14 000rpm'de 5 dk santrifüj edilerek yıkama tamponlarından gelen alkolden arındırıldı. Alkolden tamamen arındırmak için filtre dördüncü ve son kez yeni 1,5'lük tüpe yerleştirildi ve 3 dk kapağı açık biçimde oda sıcaklığında bekletildi.

Daha sonra filtre membranının tam ortasına 200 $\mu$ l elüsyon tamponu (elution buffer-D) eklendi, 5dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tüp 10.000rpm'de 1 dk santrifüj edildi, filtredeki DNA çözeltisi toplama tüpüne aktarıldı, etiketlendi ve -20°C'de çalışılmak üzere muhafaza edildi.

### 2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MEFV geninin ilgili bölgelerinin (Tablo 2.) çoklu (multipleks) amplifikasyonu için Vienna Lab FMF PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. Kit, bir amplifikasyon karışımı (12 gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler, ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir) ve Taq DNA polimeraz tamponundan oluşmaktadır.

PCR anakarışım, her hasta için etiketlenmiş 0.2 ml eppendorf tüp ortamı;

Amplifikasyon karışımı : 15  $\mu$ l

Taq DNA polimeraz seyreltici tapon: 4,6  $\mu$ l

Taq DNA polimeraz : 0,4  $\mu$ l

Kalıp DNA : 5  $\mu$ l

Toplam hacim : 25  $\mu$ l şeklinde hazırlandı.

Multipleks PCR koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı:

95°C'de.....2dk (ilk denaturasyon)

95°C'de.....15sn (denaturasyon)

56°C'de.....30sn (bağlanma)

72°C'de.....30sn (uzama)

72°C'de.....3dk (son uzama)

35 döngüden sonra elde edilen PCR ürünleri strip test tekniğinde değerlendirilmek üzere +4°C'de saklandı.

### 2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4  $\mu$ l) %1'lik agaroz jel elektrofrezinde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10  $\mu$ l ürün revers hibridizasyon analiz için kullanıldı.

### 2.5. Revers-Hibridizasyon

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon ProfiBlot T48 (Tecan) hibridizasyon cihazı kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerlerle çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitroselluloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasına dayanan bir tekniktir.

### 2.5.1. Revers Hibridizasyon basamakları ve kullanılan solüsyonlar

Strip test tekniğininde Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

#### 1) Strip üzerindeki problar ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon

Cihazın örnek yükleme bölgesine (trey) yüklenen 10µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi. Treye strip yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın sallanan platformunda, 45°C de sıcaklıkta (yaklaşık) 1ml hibridizasyon tamponu ile 20 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

#### 2) Yıkama

Hibridizasyon sonrasında ortamda bulunması istenmeyen PCR ürünleri ve non-spesifik bağlanma yapan oligonükleotidler kuvvetli bir yıkayıcı olan yıkama solüsyonu A (1ml) ile 45°C'de 15 dakikalık üç yıkama periyodu ile ortamdan uzaklaştırıldı.

#### 3) Renk oluşumu

Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15 dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalan fosfataz, biyotin işaretli hibrit DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı.

Konjugat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10, 5 ve 5 dakikalık üçer periyotta temizlendi.

Strip üzerindeki hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortama 1ml alkalan fosfatazın substratı olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfatdan (BCIP) oluşan renk geliştiricisi (color developer) eklendi, oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona tabi tutuldu. Strip son olarak distile su ile yıkandı, kâğıt havlu ile kurutulduktan sonra değerlendirme tablosuna (Collector) özenle yerleştirildi.

### 2.5. 2. Striplerin Değerlendirilmesi

Her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası striplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmazlar.

Yabanıl tip gen bölgelerine ait 8 prob stripin alt kısmında, mutant gen bölgelerine ait 12 adet prob ise stripin üst kısmında sinyal verecek şekilde dizayn edilmişlerdir (Şekil 6.). Hibridizasyon sonrası tüm yabanıl tip bantları mevcut olduğu ve mutant gen bölgelerine ait bantların bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir (Şekil 7.). Mutant gen bölgelerine ait bantlardan birinden sinyal alıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabanıl tip kodonuna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar

verilir. Mutasyonun yabancıl tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon **heterozigot**, mevcut olmaması durumunda ise **homozigot** olarak değerlendirilir.

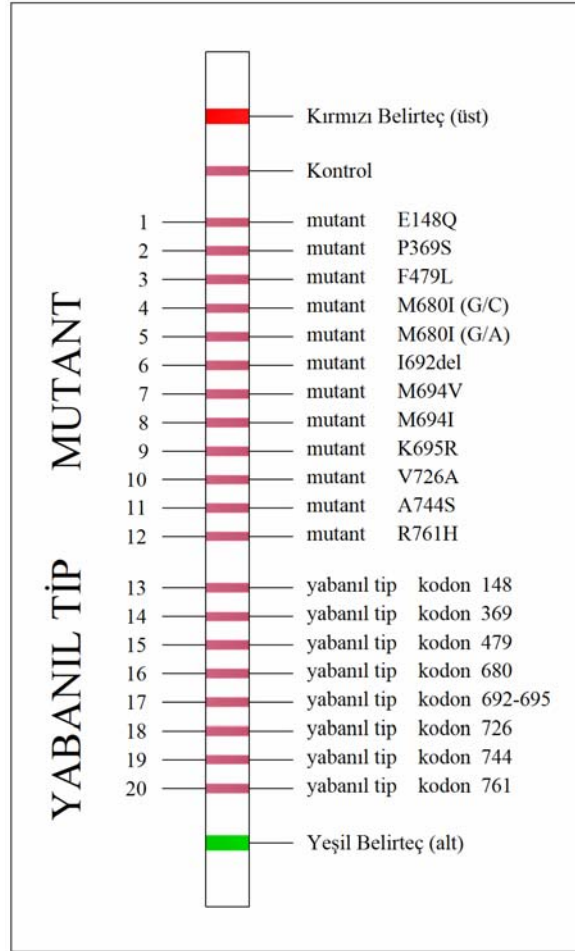
## 2.6. İstatiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen veriler Epi Info 6.04 paket programında değerlendirildi. M694V, M680I (G/C) ve E148Q mutasyonları için genotip fenotip ilişkisinin ortaya koyulması için Ki-kare( $\chi^2$ ) ve Fisher'in Exact testi kullanıldı.

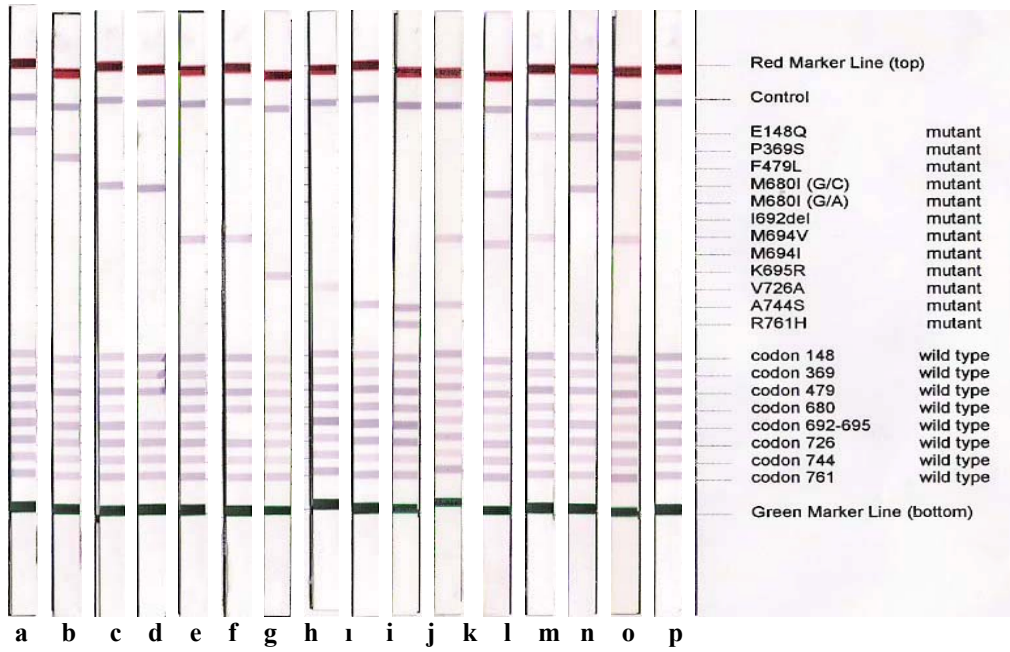
**Tablo 2.** Hasta grubunda taranan MEFV gen mutasyonları, mutasyonların bulunabilecekleri ekzonik birimler, gen üzerindeki sıraları ve strip testler için dizi özgüllükleri

Mutasyon tipi	Ekzon	Nükleotid	Dizi spesifitesi
E148Q	2	442	CAG CCC <u>C</u> AG GCC GGG (mutant) CAG CCC <u>G</u> AG GCC GGG (yabancıl tip)
P369S	3	1105	CTA AGC <u>T</u> CC CAG CCC (mutant) CTA AGC <u>C</u> CC CAG CCC (yabancıl tip)
F479L	5	1413	GAG CAT <u>T</u> TG TTT GTG (mutant) GAG CAT <u>T</u> TG TTT GTG (yabancıl tip)
M680I (G/C)	10	2040	GGG AAC <u>A</u> TG ACT CTG (mutant) GGG AAC <u>G</u> TG ACT CTG (yabancıl tip)
M680I (G/A)	10	2040	GGG AAC <u>A</u> TA ACT CTG (mutant) GGG AAC <u>G</u> TG ACT CTG (yabancıl tip)
1692del	10	2076-2078	GGG AAC <u>A</u> TA ACT CTG (mutant) GGG AAC <u>G</u> TG ACT CTG (yabancıl tip)
M694V	10	2080	ATA ATG <u>G</u> TG AAG GAA (mutant) AAA ATG <u>A</u> TG AAG GAA (yabancıl tip)
M694I	10	2082	ATA ATG <u>A</u> TA AAG GAA (mutant) AAA ATG <u>G</u> TG AAG GAA (yabancıl tip)
K695R	10	2084	ATG ATG <u>A</u> GG GAA AAT (mutant) ATG ATG <u>A</u> AG GAA AAT (yabancıl tip)
V726A	10	2177	TAC AGA <u>G</u> CT GGA AGC (mutant) TAC AGA <u>G</u> TT GGA AGC (yabancıl tip)
A744S	10	2276	ACA TTC <u>T</u> CC AGC TGC (mutant) ACA TTC <u>G</u> CC AGC TGC (yabancıl tip)
R761H	10	2283	GGG ACA <u>C</u> AT GAT GGA (mutant) GGG ACA <u>C</u> GT GAT GGA (yabancıl tip)





**Şekil 6.** Araştırmada kullanılan stripin genel görünüşü, mutasyon ve yabanıl tip gen bölgelerinin strip üzerindeki yerleşimleri



**Şekil 7.** Çalışmada çıkan her mutasyon tipine ait strip örnekleri **a)** E148Q/N, **b)** P369S/N, **c)** M680I(G/C), **d)** M680I(G/C)/ M680I(G/C), **e)** M694V/N, **f)** M694V/M694V, **g)** K695R/N, **h)** V726A/N, **ı)** A744S/N, **i)** A744S/R761H, **j)** A744S/M694V, **k)** M694V/V726A, **l)** M694V/M680I(G/C), **m)** M694V/E148Q, **n)** E148Q/M680I(G/C), **o)** E148Q/P369S/M694V, **p)** N/N\*

\* Taranan mutasyonlar açısından homozigot yabancı tip

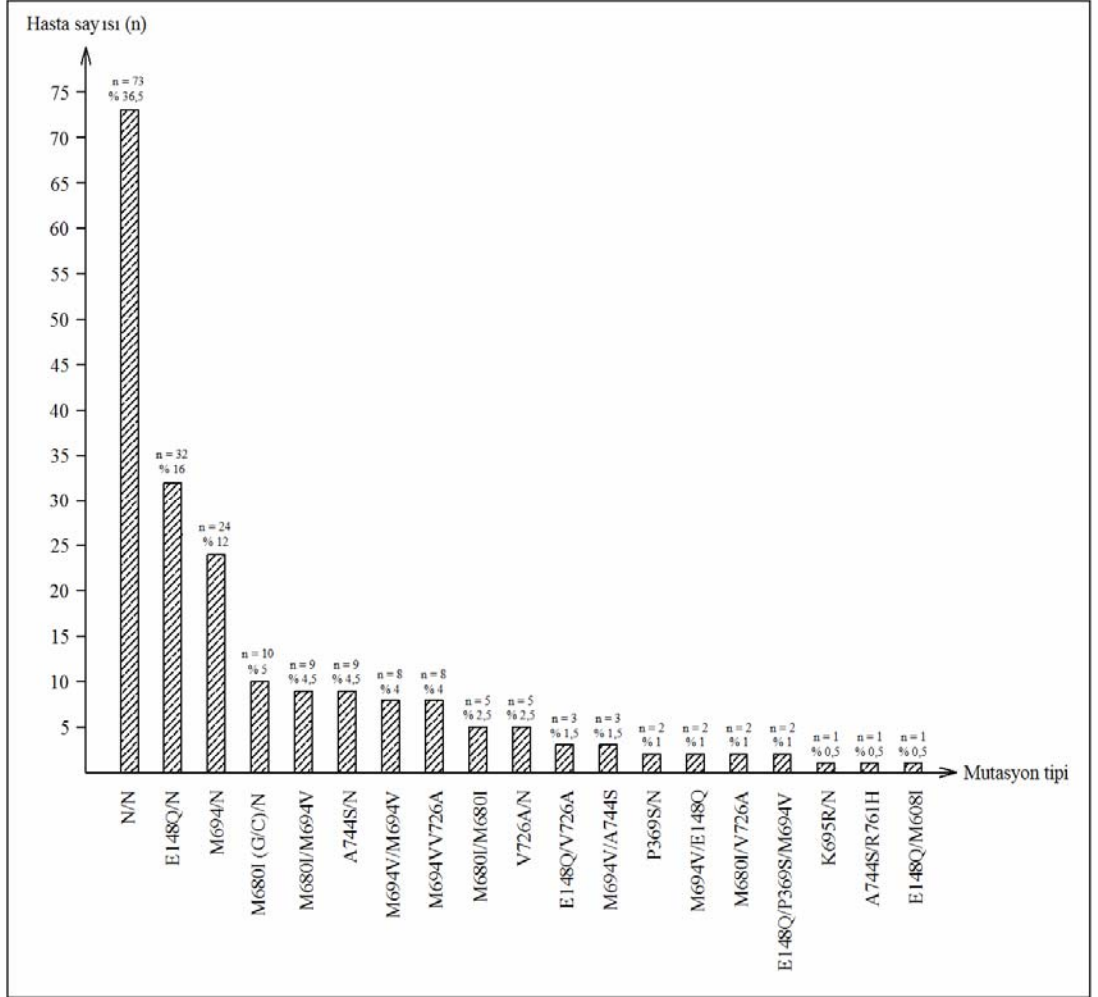
### 3. BULGULAR

#### 3.1.Genetik Veriler

FMF ön tanısıyla C.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı'na başvuran 200 hasta 12 MEFV gen mutasyonu (E148Q, P369S, F479L, M680I (G/C), M680I (G/A), 1692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H) açısından tarandı. Hastaların 127'sinde (%63,5) taranan mutasyonlardan bir veya daha fazla sayıda saptanırken 73 hasta (%36,5) taranan mutasyonlar açısından non-mutant olarak saptandı. Taranan 12 adet mutasyondan M694V, M680I (G/C), E148Q, V726A, A744S, K695R, P369S ve R761H olmak üzere 8'i hasta grubunda belirlenirken F479L, M680I (G/A), 1692del ve M694I mutasyonlarına rastlanmadı (Tablo 3.).

**Tablo 3.** Hastalarımızda gözlenen mutasyon tipleri ve dağılımları

Mutasyon Tipi ve allelik durumu	Hasta sayısı	%
E148Q/ N	32	16
M694V/ N	24	12,0
M680I(G/C)/ N	10	5,0
M680I/M694V	9	4,5
A744S/ N	9	4,5
M694V/ M694V	8	4,0
M694V ve V726A	8	4
M680I (G/C) ve M680I(G/C)	5	2,5
V726A/ N	5	2,5
E148Q ve V726A	3	1,5
M694V ve A744S	3	1,5
P369S/ N	2	1
M694V ve E148Q	2	1
M680I ve V726A	2	1
E148Q ve P369S ve M694V	2	1
K695R/ N	1	0,5
A744S ve R761H	1	0,5
E148Q ve M680I	1	0,5
N/N	73	36,5
Toplam	200	100



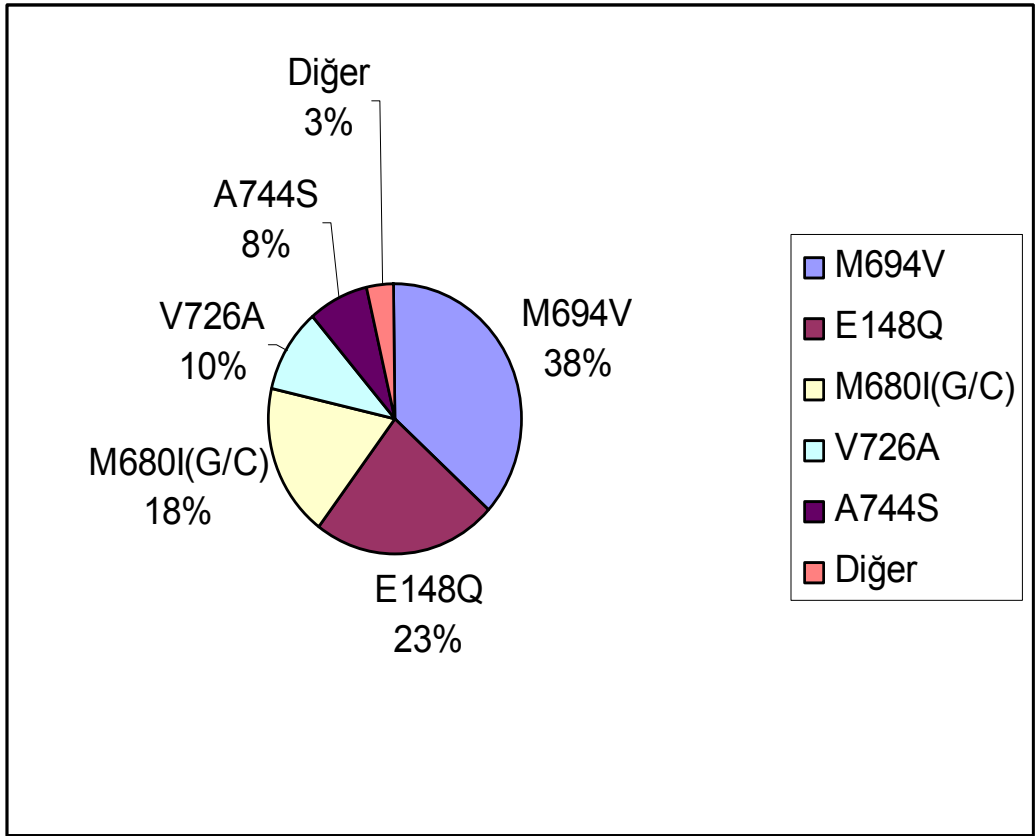
Şekil 8. Saptanan mutasyon tiplerinin sayı ve yüzdelerinin grafik olarak gösterimi

Saptanan mutasyonlar hastalarda bulunma durumlarına göre homozigot, heterozigot ve birleşik olarak kategorize edildiği durumda (Tablo 3. ) en sık mutasyon heterozigot E148Q olarak saptandı (n=32, %16). Heterozigot E148Q mutasyonu heterozigot M694V (n=24, %12) ve heterozigot M680I (G/C) (n=10, %5) mutasyonları tarafından izlendi. Hastaların 38'inde 2 farklı mutasyona 2'sisinde ise 3 farklı mutasyona bir arada rastlandı.

Çalışılan mutasyonların hastalarda saptanan mutasyonlar içindeki sıklığı, yüzdesi ve 400 allel içindeki yüzdesi tablo 4.' de görülmektedir. Taranan 12 mutasyondan M694V tüm mutasyonların %37'sini ve 400 allelin %16'sını teşkil etmektedir. E148Q mutasyonunun tüm mutasyonlar içindeki sıklığı %23 olup M694V' den sonra ikinci en sık mutasyondur. Üçüncü en sık mutasyon olan M680I (G/C) tüm mutasyonların %18,5'ini oluşturmaktadır.

**Tablo 4.** Çalışılan mutasyonların 200 hastada bulunma sıklığı, tüm mutasyonlar içindeki yüzdesi ve 400 alleldeki yüzdesi

Mutasyon Tipi	sıklık	Tüm mutasyonlar içindeki yüzde	400allel içindeki yüzde
M694V	64	37	16
E148Q	40	23	10
M680I (G/C)	32	18,5	8
V726A	18	10,5	4,5
A744S	13	7,5	3,25
P369S	4	2,5	1
K695R	1	0,5	0,25
R761H	1	0,5	0,25



Şekil 9. Saptanan her bir mutasyonun tüm mutasyonlar içindeki yüzdesi

### 3.2. Klinik Veriler

Tell-Hashomer FMF tanı kriterlerinin hastalarımızdaki dağılımı Tablo5.'de özetlenmiştir. Çalışılan hasta grubunda en fazla karın ağrısına rastlanmıştır.

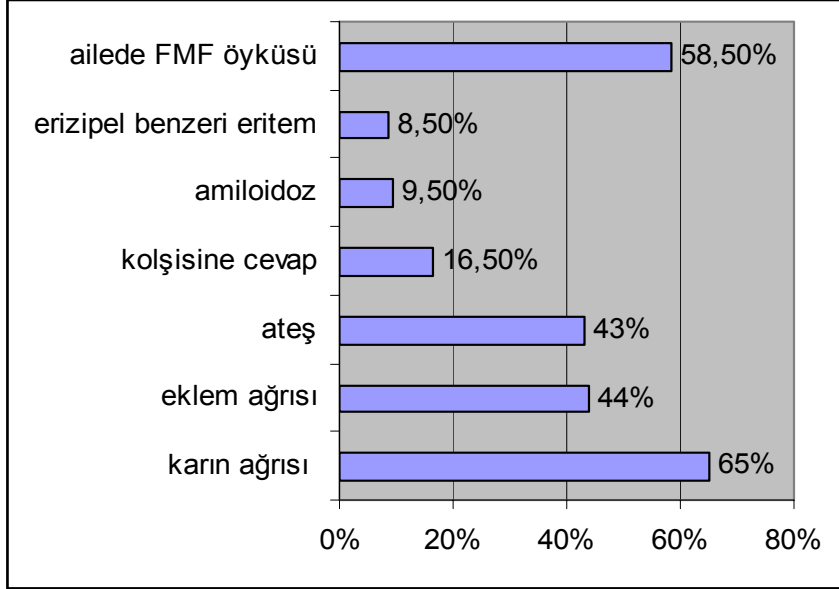
**Tablo 5.** Çalışılan hasta grubunda değerlendirilen klinik parametrelerin dağılımları  
Araştırmaya dâhil edilen hastaların büyük bir oranının karın ağrısı (% 65) ve ailede FMF öyküsü (% 58,5) şikâyetleri ile kliniğimize başvurdukları anlaşılmaktadır.

Klinik parametre	n	%
Karın ağrısı	130	<b>65</b>
Eklem ağrısı	88	44
Ateş	86	43
Kolşisine cevap	33	16.5
Amiloidoz	19	9.5
Erizipel benzeri eritem	17	8.5
Ailede FMF öyküsü	117	58.5

Tell-Hashomer FMF tanı kriterleri dışında gözlenen en sık gözlenen klinik bulgu bulantı ve kusmadır (% 8). Mide bulantısı ve kusma halsizlik ve baş ağrısı tarafından izlenmektedir (Tablo 6.).

**Tablo 6.** Tell-Hashomer kriterleri dışında en sık rastlanan klinik bulgular

Klinik parametre	n	%
Bulantı-kusma	16	8
Halsizlik	12	6
Baş ağrısı	8	4
Kas ağrısı	6	3
Bel ağrısı	2	1



**Şekil 10.** Hasta grubunda saptanan her bir klinik parametrenin yüzdesi

Araştırmaya dâhil edilen 200 hastanın 11'inin daha önce apandisit ameliyatı geçirdiği saptandı. Mutasyon analizi sonucunda bu hastaların 9'unda mutasyona rastlanmıştır. Saptanan mutasyon çeşitleri tablo 7' de özetlenmiştir.

**Tablo7.** Apandisit ameliyatı geçirmiş hastalarda gözlenen mutasyonlar

Mutasyon çeşidi	n
Homozigot M694V	3
Homozigot M680I (G7C)	1
Heterozigot mutasyonlar	5
Mutant olmayan	2

Araştırma kapsamında hastaların anne ve babalarının akraba olup olmadığı sorgulanmış ve 23 hastanın anne ve babasının 1. dereceden akraba olduğu belirlenmiştir. Bu hastaların 9'unda heterozigot, 4'ünde ise homozigot mutasyon saptanmıştır.



### 3.3. Genotip-Fenotip İlişkisi

M694V, M680I (G/C) ve E148Q mutasyonları fenotiple ilişkileri açısından değerlendirildi. Ayrıca tekli ve birleşik mutasyonlar fenotipik özellikleri karşılaştırıldı.

#### 3.3.1. M694V Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi

M694V mutasyonunun fenotiple ilişkisinin belirlenmesi için bu mutasyonun homozigot formuna sahip hastalarla heterozigot formuna sahip hastalar ve M694V dışındaki mutasyonlara sahip hastalar klinik parametreler açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Homozigot M694V mutasyonuna sahip hastalarda amiloidoz ( P=0,000), karın ağrısı ( P=0,05) ve tekrarlı ateşe (P=0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha sık rastlandı.

**Tablo 8.** M694V mutasyonunun FMF hastalarında çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi

Klinik parametreler		Mutasyon Çeşiti						P değeri
		Homozigot M694V/M694V		Heterozigot M694V/N		Diğer mutasyonlar		
		n	%	n	%	n	%	
Abdominal ağrı*	var	8	100	14	58,3	46	64,9	P=0.05
	yok	0	0	10	41,7	25	35,1	
Eklem ağrısı	var	5	62,5	9	37,5	28	39,4	P>0.05
	yok	3	37,5	15	62,5	43	60,6	
Amiloidoz**	var	8	100	1	4,2	4	5,6	P=0,000
	yok	0	0	23	95,8	67	94,4	
Tekrarlı ateş*	var	7	87,5	7	29,2	26	36,6	P=0,001
	yok	1	12,5	17	70,8	45	63,4	
Kolşisine cevap	var	2	25	1	4,2	14	19,7	P>0.05
	yok	6	75	23	95,8	57	80,3	
Erizipel benzeri eritem	var	1	12,5	1	4,2	9	12,7	P>0.05
	yok	7	87,5	23	95,8	62	87,3	
Ailede FMF öyküsü	var	4	50	16	66,7	43	60,6	P>0.05
	yok	4	50	8	33,3	28	39,4	

N: normal (Mutasyonsuz) allel

• : Homozigot M694V mutasyonu için anlamlı klinik bulgu ve önemlilik derecesi(p<0.05)

Diğer mutasyonlar : M694V dışındaki tekli ve M694V'yi içermeyen birleşik mutasyonların tamamı

### 3.3.2. M680I (G/C) Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi

M680I (G/C) mutasyonu için de homozigot, heterozigot ve bu mutasyonun dışındaki mutasyonlara sahip hastalar klinik parametreler açısından karşılaştırıldı. Abdominal ağrı diğer mutasyonlar lehine anlamlı bir şekilde daha sık olarak saptandı (P=0,03).

**Tablo 9.** M680I (G/C) mutasyonunun FMF hastalarında çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi

Klinik parametreler		Mutasyon Çeşidi						P değeri
		Homozigot M680I/M680I		Heterozigot M680I/N		Diğer Mutasyonlar		
		n	%	n	%	n	%	
Abdominal ağrı	var	4	80	3	30	69	69	P=0,03
	yok	1	20	7	70	31	31	
Eklem ağrısı	var	3	60	1	10	45	45	P>0.05
	yok	2	40	9	90	55	55	
Amiloidoz	var	0	0	1	10	13	13	P>0.05
	yok	0	0	9	90	87	87	
Tekrarlı ateş	var	2	40	3	30	43	43	P>0.05
	yok	3	60	7	70	57	57	
Kolşisine cevap	var	2	40	1	4,2	19	19	P>0.05
	yok	3	60	1	10	81	81	
Erizipel benzeri eritem	var	1	20	0	0	7	7	P>0.05
	yok	4	80	0	0	93	93	
Ailede FMF öyküsü	var	3	60	9	90	63	63	P>0.05
	yok	2	40	1	10	37	37	

N: normal (Mutasyonsuz) allel

Diğer Mutasyonlar: M680I (G/C)'yi içermeyen tekli ve birleşik mutasyonlar

### 3.3.3. E148Q Mutasyonunun Fenotiple İlişkisi

Çalışma grubunda E148Q mutasyonunun homozigot formuna rastlanmaması nedeniyle bu mutasyon klinik parametreler açısından heterozigot M694V mutasyonu ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı hiçbir sonuç elde edilmedi.

**Tablo 10.** Heterozigot M694V ve heterozigot E148Q mutasyonlarının klinik parametreler açısından incelenmesi

Klinik parametreler		M694V/ N		E148Q/N		P Değeri
		n	%	n	%	
Abdominal ağrı	var	14	58,3	22	68,7	P>0.05
	yok	10	41,7	10	31,3	
Eklem ağrısı	var	9	37,5	9	28,1	P>0.05
	yok	15	62,5	23	71,9	
Amiloidoz	var	1	4,2	1	3,1	P>0.05
	yok	23	95,8	31	96,9	
Tekrarlı ateş	var	7	29,2	9	28,1	P>0.05
	yok	17	70,8	23	71,9	
Kolşisine cevap	var	1	4,2	3	9,4	P>0.05
	yok	23	95,8	29	90,6	
Erizipel benzeri eritem	var	1	4,2	3	9,4	P>0.05
	yok	23	95,8	29	90,6	
Ailede FMF öyküsü	var	16	66,7	19	59,4	P>0.05
	yok	8	33,3	13	40,6	

N: Normal (Mutasyonsuz) allel

### 3.3.4. Tekli ve Birleşik Mutasyonların Klinik Parametreler Açısından Karşılaştırılması

Tekli ve birleşik mutasyonların karşılaştırılmasında eklem ağrısı (P=0,043) ve tekrarlı ateşe (P=0,019) birden fazla mutasyona sahip hastalarda daha sık rastlandığı sonucuna ulaşıldı.

**Tablo 11.** Çalışma grubunda tek tip ve birleşik mutasyonların çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi

Klinik parametreler		Tek tip mutasyon		Birleşik mutasyonlar		P Değeri
		n	%	n	%	
Abdominal ağrı	var	62	64,6	23	74,2	P>0.05
	yok	34	35,4	8	25,8	
Eklem ağrısı*	var	37	38,5	21	67,7	<b>P=0,043</b>
	yok	59	61,5	10	32,3	
Amiloidoz	var	13	13,5	3	9,7	P>0.05
	yok	83	86,5	28	90,3	
Tekrarlı ateş*	var	36	37,5	19	61,3	<b>P=0.019</b>
	yok	60	62,5	12	38,7	
Kolşisine cevap	var	14	14,5	11	35,5	P>0.05
	yok	82	85,5	20	64,5	
Erizipel benzeri eritem	var	9	9,4	9	29	P>0.05
	yok	87	90,6	22	71	
Ailede FMF öyküsü	var	63	65,6	20	64,5	P>0.05
	yok	33	34,4	11	35,5	

N: Normal (Mutasyonsuz) allel

\*: Birleşik mutasyonlar için anlamlı klinik parametreler ve önem derecesi (P<0,005)

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

FMF' e neden olan genin (MEFV) 1997 de Fransız FMF Konsorsiyumu ve Uluslar arası FMF Konsorsiyumu tarafından yerinin belirlenmesi ve FMF'e neden olan mutasyonların bildirilmeye başlanması üzerine hastalığın yaygın olarak görüldüğü 4 etnik grupta (Türkler, Ermeniler, Araplar ve Yahudiler) mutasyon sıklıkları ve saptanan mutasyonların fenotiple ilişkisi araştırılmaya başlanmıştır. Touitou ve Ark. (2002) FMF'in prototipini oluşturduğu oto-immün hastalıklar için bir veri tabanı (Infervers) oluşturmuşlardır (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infervers>). MEFV geni üzerinde bulunan yeni mutasyonlar ve genotip-fenotip ilişkisine dair araştırma sonuçları bu veri tabanında toplanmaktadır. Bu güne kadar Infervers'de tanımlanmış 140'ı aşkın FMF mutasyonu bildirilmiştir. Ayrıca Pugnere ve Ark. (2003) tarafından aynı amaçla kurulmuş MetaFMF adında başka bir veri tabanı da ([http://fmf.igh.cnrs.fr/metaFMF/index\\_us.html](http://fmf.igh.cnrs.fr/metaFMF/index_us.html)) bulunmaktadır.

FMF'e neden olan ekzon 10 ve ekzon 2 bölge mutasyonları (M694V, M694I, M680I, V726A ve E148Q mutasyonları) bütün mutasyonlarının %74'ünü oluşturmaktadırlar. Mutasyon tipi ve sıklığı gerek farklı popülasyonlarda ve gerek 4 etnik grupta farklı olabilmektedir. Bu etnik grupların hepsinde en sık rastlanan mutasyon tipi M694V mutasyonudur. Türklerde tüm mutasyonların %45'ini, Araplarda %20'sini, Yahudilerde %65'ini ve Ermenilerde ise %37'sini M694V mutasyonu oluşturmaktadır. M694V'yi Araplarda M694I, Ermeni ve Türklerde M680I ve Yahudilerde ise V726A mutasyonları takip etmektedir. Bu mutasyonlar içinde E148Q tüm etnik gruplarda en az rastlanan mutasyondur (Touitou, 2001).

Yapılan çalışmada 200 hastanın 127'sinde (%63.5) mutasyon saptandı. Mutant bireylerin 13'ü homozigot (10,23), 83'ü heterozigot (%65,35), 31'i ise birleşik heterozigot (24,5) genotip'e sahip olduğu bulundu. Mutasyon frekansları öncelikle hastaların sahip olduğu genotipe daha sonra ise her mutasyonun saptanan tüm mutasyonlar içindeki sıklığına göre hesaplandı. Yapılan hesaplar sonrasında en sık genotip E148Q/N genotipi olarak hesaplandı. Bu genotipi M694V ve M680I (G/C) genotipleri izledi. Saptanan mutasyonlar içinde en yüksek frekans M694V mutasyonuna ait olduğu saptandı. Bunun sebebi M694V mutasyonunun E148Q'nun aksine homozigot formunun da bulunması ve birleşik mutasyonlarda sık gözlenmesidir.

Bu çalışmada kullanılan mutasyon tarama tekniği hızlı ve güvenilir olmasına rağmen aynı hastada birden fazla mutasyon bulunması durumunda mutasyonların aynı allelde mi yoksa farklı alleller üzerinde mi olduğunun saptanmasına duyarlı değildir. Bu çalışmada birleşik mutasyon taşıyan bireylerde ebeveyn ve kardeşlerdeki mutasyon profili değerlendirilmiş ve E148Q, P369S ve M694V mutasyonlarını taşıyan iki kardeşin P369S ve E148Q mutasyonlarını aynı allel üzerinde taşıdığı saptanmıştır.

Elde edilen klinik veriler bölüm 1.2 'de anlatılan FMF bulgularının sıklık sıralaması ile paralellik göstermektedir. En yaygın bulgu 130 hastada gözlenen karın ağrısıdır (%65). Hastaların

88'inde eklem ağrısı (%44), 86'sında ise tekrarlı ateş (%43) gözlenmektedir. Tell-Hashomer majör ve minör kriterleri dışında hastaların %8'inde bulantı kusma , %6'sında halsizlik %4'ünde ise baş ağrısı olduğu saptanmıştır.

FMF'in en sık rastlanan klinik bulgusu olan karın ağrısı çoğunlukla apandisit ile karıştırılmaktadır. Bu nedenle çalışılan hastaların apandisit ameliyatı geçirip geçirmediği sorgulanmış ve apandisit ameliyatı geçirdiği saptanan 11 hastanın 3'ünde homozigot mutasyona 6'sında ise heterozigot mutasyona rastlanmıştır.

Ülkemizde akraba evliliği sıklığı %27 olarak hesaplanmıştır (Özvarış ve Ark., 1998). Akraba evlilikleri tüm kalıtsal hastalıklarda olduğu gibi FMF' de de mutant allellerin bir araya gelme olasılığını arttırmaktadır. Yapılan araştırmada hasta grubunda 23 hastanın anne ve babasının akraba olduğu tespit edilmiştir. Bu hastaların 4'ü homozigot mutasyona sahiptir. Bu durum homozigot 13 hastanın %31'inin akraba evliliği sonucu oluştuğu anlamına gelmektedir. Elde edilen bu sonuç FMF gibi yüksek taşıyıcı frekansına sahip hastalıklarda geniş çapta toplum taramaları ile hasta ve taşıyıcı bireylerin saptanması ve bu bireylere genetik danışma hizmetlerinin verilmesi özellikle homozigot hasta frekansının düşürülmesi açısından çok büyük önem arz ettiğini göstermektedir.

FMF için ilk genotip-fenotip uyumu çalışmaları MEFV geninin yerini belirleyen Fransız FMF Konsorsiyumu (1997) ve Uluslararası FMF Konsorsiyumu (1997) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalarda M694V mutasyonunun hastalık şiddetini ve amiloidoza yatkınlığı arttırdığı ileri sürülmüştür. Daha sonra Mimouni ve Ark. (2000), Kone' Paut ve Ark. (2000), Majeet ve Ark. (2005), Zaks ve Ark. (2003) ve Sarkisian ve Ark. (2005) M694V mutasyonunun hastalığın daha şiddetli seyretmesine ve amiloidoza neden olduğu yönünde sonuçlara ulaşmışlar ve böylece FMF'de bir genotip-fenotip uyumu olduğunu doğrulamışlardır. Bununla birlikte Yalçınkaya ve Ark. (2000) ve Atagunduz ve Ark. (2004) FMF'de genotip-fenotip uyumu üzerine yaptıkları çalışmalarda MEFV mutasyonları ve amiloidoz arasında bir ilişkiye rastlamamışlardır.

Chae ve Ark. (2006) ve Goulielmos ve Ark. (2006) bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda MEFV geninin ürünü olan pirin proteinin anti-inflamasyon sitokinlerinin varlığında B30.2 alt birimi ile Pro-kaspaz-1'e bağlanarak, inflamasyonu başlatıcı bu proteini bloke ettiğini böylece inflamasyonu kontrol altında tuttuğunu göstermişlerdir. Daha da önemlisi bu iki çalışma grubu da pirin ve pro-kaspaz-1 etkileşimi için yaptıkları üç boyutlu çalışmalarda M694V ve M680I mutasyonlarının bağlanma bölgelerine denk geldiğini göstermiş ve böylelikle genotip-fenotip korelasyonunun moleküler boyutuna açıklık getirmişlerdir.

Bu çalışmada homozigot M694V, heterozigot M694V ve diğer mutasyonlar (Tekli ve M694V mutasyonunun yer almadığı birleşik mutasyonlar) majör ve minör FMF kriterleri açısından karşılaştırılmış ve baskın görüşü destekler nitelikte homozigot M694V mutasyonunun amiloidoz riskini arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu karşılaştırmada ayrıca homozigot M694V ile

abdominal ağrı ve tekrarlı ateş parametreleri arasında da pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu iki bulgu homozigot M694V mutasyonunun aynı zamanda FMF hastalarında daha şiddetli bir klinik tabloya neden olduğunu göstermektedir. Amiloidozun da karın ağrısı ve ateş yaptığı gerçeği bu iki bulguya homozigot M694V mutasyonunda daha sık rastlanmasını açıklamaya yardımcı bir unsurdur.

Homozigot M680I (G/C), heterozigot M680I (G/C) ve diğer mutasyonların (tekli ve M680I (G/C) mutasyonunu içermeyen birleşik mutasyonlar) majör ve minör bulguları arasında yalnız abdominal ağrı için diğer mutasyonlar kategorisinin lehine bir korelasyon gözlenmiştir. Literatürde heterozigot M680I (G/C) mutasyonunun karın ağrısına karşı koruyucu olduğuna dair bir veri bulunmamaktadır.

Birden fazla mutasyona sahip hastalarda, mutasyonların farklı alleller üzerinde bulunması durumunda hasta bireylerde hiç normal allel bulunmayacaktır. Bu durum bu tip hastaların homozigotlarda olduğu gibi daha şiddetli hastalık belirtileri göstermesini gerektirir. Bu nedenle tekli ve birleşik mutasyonlar klinik parametreler açısından karşılaştırılmış ve eklem ağrısı ve tekrarlı ateş parametrelerine birleşik mutasyonlarda daha sık rastlandığı saptanmıştır.

FMF mutasyon sıklıklarının saptanması üzerine yapılmış çoğu çalışmada E148Q mutasyonunun sıklığı diğer mutasyonlara göre düşük olarak saptanmıştır (Majeet ve Ark. 2005; Sarkisian ve Ark. 2005). Bu çalışmada ise ikinci en sık mutasyon olarak saptanmıştır. Bu durum çalışmaya mutasyon saptanan bireylerin ailelerinin de dâhil edilmesi ile açıklanabilir. Bunun yanı sıra diğer çalışmalarda düşük frekansta çıkmasının nedeni E148Q'nun MEFV üzerindeki lokalizasyonu nedeniyle düşük penetrasyona sahip olması ile açıklanabilir. Düşük fenotipik penetrasyon heterozigot hatta homozigot E148Q mutasyonuna sahip bireyleri bazen FMF açısından asemptomatik kılmakta ve FMF hastalarına yönelik mutasyon taramalarında düşük frekansta saptanmasına neden olmaktadır (Minouni ve Ark.,2000). FMF'in yaygın olduğu etnik gruplarda yapılacak olan geniş çapta toplum taramaları E148Q mutasyonunun gerçek sıklığına ışık tutacaktır.

E148Q'daki düşük penetrans bazı araştırmacıları E148Q'nun mutasyondan ziyade bir dizi varyantı başka bir deyişle bir polimorfizm olabileceğini düşünmeye itmiştir. Ben-Chetrit ve Ark. (2000) hastalarının ailelerinde yaptıkları mutasyon taramalarında asemptomatik homozigot E148Q mutasyonlarına rastlamış bunun üzerine 70 sağlıklı kontrol grubu ve 25 hasta üzerinde yaptıkları çalışmadan elde ettikleri sonuçlarla E148Q'nun hastalık sebebi bir mutasyon olduğuna dair bir gözlemin bulunmadığını bildirmişlerdir. Booth ve Ark. (2001) 50 sağlıklı kontrol, 25 AA tip amiloidoz ve 7 karakterize edilmemiş ateş sendromuna sahip 82 hastayı E148Q mutasyonu açısından taramış ve E148Q'nun bir dizi varyantı olduğunu ve homozigot E148Q'nun bile hastalığa neden olamayacağını ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte, Topaloğlu ve Ark. (2005) 26 homozigot ve 10 birleşik heterozigot E148Q mutasyonuna sahip bireyi fenotipik değerlendirmeye

tabi tutmuşlar ve E148Q'ya sahip çoğu hastanın FMF açısından semptomatik olduğunu ve kolşisin tedavisine ihtiyaç duyduklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada heterozigot E148Q mutasyonu majör ve minör FMF kriterleri açısından heterozigot M694V mutasyonu ile karşılaştırılmış hiçbir parametrede M694V mutasyonu lehine istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır. FMF'de atakların oluşmasının duygusal stres, fiziksel yorgunluk gibi faktörler tarafından tetiklendiği düşünülürse düşük penetrasyonlu E148Q mutasyonuna sahip fiziksel yorgunluk ve duygusal stresten uzak yaşayan bazı bireyler asemptomatik olarak gözlenebileceklerdir.

FMF otozomal resesif olarak kalıtılan diğer hastalıklardan farklı olarak heterozigot durumda kendini gösterebilmektedir. Yaptığımız çalışmada da heterozigot E148Q (% 16), heterozigot M694V (% 12) ve heterozigot M680I (G/C) (%5) mutasyonuna sahip bireylerin FMF belirtilerini gösterdiği ortaya konmuştur. Bu durum için muhtemel bir açıklama heterozigot hastalarda FMF'e eşlik eden farklı bir inflamatuvar bir hastalığın varlığıdır. Yapılan çalışmalar Behçet hastalığı varlığının tek mutasyon taşıyan bireylerde bile hastalık belirtilerini yoğunlaştırdığını kanıtlamıştır. FMF de hastalık şiddetini etkileyen bir diğer unsur SAA1 (serum amiloid A 1) lokusudur. SAA1  $\alpha/\alpha$  genotipi diğer SAA genotipleriyle karşılaştırıldığında özellikle M694V mutasyonu varlığında Renal amiloidoz riskini 7 kat arttırabilmektedir (Ben-Chetrit, 2001). Demirtürk ve Ark. (2005) dünya genelinde en yaygın gastrodüodönal enfeksiyon sebeplerinden biri olan ve FMF' dekine benzeyen bir inflamasyon mekanizmasını tetikleyen, *Helicobacter pylori*' nin FMF ataklarının şiddetini arttırabileceğini ispatlamış ve *Helicobacter pylori* için yapılacak bir tedavinin FMF ataklarının sıklığı ve şiddetini düşürebileceğini ileri sürmüştür.

FMF taşıyıcılarıyla ilgili dikkat çeken bir başka durum ise FMF' in yaygın olduğu 4 etnik grupta da sayılarının çok yüksek olmasıdır. Taşıyıcılık oranı Türkler, Askenazi Yahudileri ve Kuzey Afrika Yahudilerinde 1/5 Ermenilerde ise 1/3'tür (Yılmaz ve Ark., 2001). Pirinin görevinin inflamasyon yanıtı kontrol altında tutmak olduğu düşünülürse, heterozigotların Akdeniz Bölgesi'ne endemik bazı organizmalara karşı özel bir direnç geliştirmiş olabileceği akla gelmektedir. Bu hususta Ross (2006) FMF' in Brucellosis' e karşı koruyucu olabileceğini ileri sürmüştür. Ross'a göre Brucellosis hem FMF'in yaygın olduğu toplumlara endemiktir hem de vücudun bu bakteriye cevabı bir FMF atağını andırmaktadır. Ross, günümüzde Brucellosis' den ölümler az sayıda olsa bile Bronz Çağı Orta Asya toplumlarında çok daha fazla olabileceğini düşünmektedir. Ayrıca FMF'in tüberküloza karşı da koruyucu olduğu ileri atılmış fakat yapılan çalışmalar bu görüşü destekler nitelikte sonuçlanmamıştır (Ross, 2006).

FMF tedavi edilebilen ender genetik hastalıklardan biridir. Uygun tanı sonrasında kullanılan kolşisin hastaların %95' inde hem FMF ataklarının hem de amiloidoz oluşumunun önüne geçebilmektedir. FMF tanısı her ne kadar daha çok klinik bulgulara dayansa da mutasyon



taramaları sonrası ortaya çıkan heterozigot M694V mutasyonuna sahip hastaların klinik bulguları göstermeseler bile tedavi edilmeleri önerilmektedir.

Sonuç olarak; bu çalışma sonrasında çalışılan hasta grubunda en yaygın MEFV gen mutasyonunun M694V olduğu, yapılan genotip fenotip korelasyon analizi sonrasında bu mutasyonun homozigot formda amiloidoz gelişimini önemli oranda arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca ülkemizde sık olarak gözlenen akraba evliliklerinin, taşıyıcı frekansının yüksek olan bu hastalıkta mutant allellerin bir araya gelme riskini arttırdığı ve FMF belirtilerinin apandisit ile sıklıkla karıştırılabildiği ortaya konmuştur. Bu nedenlerden dolayı, geniş çapta toplum taramaları yapılarak hasta ve taşıyıcı bireyler belirlenmeli ve bu bireylere uygun genetik danışma hizmetleri verilmelidir.

## 5. KAYNAKLAR

1. **Abedat, S., Urieli-Shoval, S., Shapina, E., Calko, S., Ben-Chetrit, E., Matzner, Y., 2002.** Effect of colchicine and cytokines on MEFV expression and C5a inhibitor activity in human primary fibroblast cultures: *Isr Med Assoc J.* 4: 7-12
2. **Atagunduz, P.M., Tuglular, S., Kantarci, G., Akoglu, E., Direskenali, H., 2004.** Association of FMF related (MEFV) point mutations with secondary and FMF amiloidosis: *Nephron Clinical Practice* 96:131-135
3. **Ben-Chetrit, E., Lerer, I., Malamud, E., Domingo, C., Abeliovich, D., 2000.** The E148Q mutation in the MEFV gene: is it a disease causing mutation or a sequence variant?: *Hum. Mutat.* 15:285-286
4. **Ben-Chetrit, E., 2001.** Genotype-phenotype relation and correlation in familial Mediterranean fever: *IMAJ* 3:838-840
5. **Booth, D.R., Lachman, H.J., Gilmore, J.D., Booth, S.E., Hawkins, P.N., 2001.** Prevalance and significance of the familial Mediterranean fever gene mutation encoding pyrin Q148: *Q.J. Med* 94: 527-531
6. **Borden, K.L., Laly, J.M., Martin, S. R., O'Reilly, N.J., Etkin, L.D., Freemont, P.S., 1995.** Novel topology of a zing binding domain from a protein involved in regulating early Xenopus development: *EMBO J.* 14:5947-5956
7. **Calguneri, M., Apras, S., Ozbalkan, Z., Ozturk, M.A., 2004.** The efficiency of interferon alpha in a patient with resistant familial Mediterranean fever complicated by polyarteritis nodosa: *Intern Med* 43:612-614
8. **Cazeneuve, C., Papin, S., Jeru, I., Doquesnoy, P., Amselem, S., 2003.** Subcellular localization of marenostrin/pyrin isoforms carrying the most common mutations involved in familial Mediterranean fever in presence or absence of its binding partner ASC: *J. Med Genet* 41:e24
9. **Centola, M., Wood, G., Frucht, D.M., Galon, J., Aringer, M., Farrell, C., Kingma, D.W., Horwitz, M.E., Mansfield, E., Holland, S.M., 2000.** The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leucocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators: *Blood.* 95: 3223-3231
10. **Chae, J.J., Wood,G., Komarow, H.D., Raben, N., Liu, P.P., Kastner, D.L., 2003.** Targeted disruption of pyrin, the FMF protein causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis: *Molecular Cell* 11:591-604
11. **Chae, J.J., Wood,G., Masters, S.L., Richard, K., Park, G., Smith, B.J., Kastner, D.L., 2006.** The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 $\beta$  production: *PNAS* 103:9982-9987

12. **Demirtürk, L., Özel, A.M., Cekem, K., Yazgan, Y., Gultepe, M., 2005.** Co-existence of *Helicobacter pylori* infection in patients with familial Mediterranean fever (FMF) and the effect of *Helicobacter pylori* on the frequency and severity of FMF attacks: *Digestive and Liver Disease* 37:153-158
13. **Erdogan, Ö., Öner, A., 2002.** Ailevi Akdeniz ateşi: *T.Klin Pediatri* 11:160-170
14. **Erken, E., Ozer, H.T., Gunesacar, R., 2006.** Plasma interleukin-10 and interleukin-12 levels in patients with familial Mediterranean fever: *Rheumatol Int.* 26(9):862-866
15. **Fairbrother, W.J., Gordon, N.C., Humke, E.W., O'Rourke, K.M., Starovasnik, M.A., Yin, J.P., Dixit, N., 2001.** The PYRIN domain: a member of death domain-fold superfamily: *Protein Sci.* 10: 1911-1918
16. **Fietta, P., 2004.** Autoinflammatory diseases: the Hereditary periodic fever syndromes: *Acta Bio. Medica. Ateneo Parmense.* 75; 92-99
17. **Gershoni-Baruch, R., Brik, R., Zacks, N., Shinavi, M., Lidar, M., Livneh, A., 2003.** The contribution of genotypes at the MEFV and SAAI loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever: *Arthritis and Rheumatism* 48(4):1149-1155
18. **Gingold-Belfer, R., Bergman, M., Ori, Y., Salman, H., 2006.** Nephrotic syndrome as a first manifestation of familial Mediterranean fever: *Harefuah* 145(10): 706-708
19. **Goldfinger, S.E., 1972.** Colchicine for familial Mediterranean fever: *N. Engl J Med* 287:1302
20. **Goulielmous, G.N., Fragouli, E., Aksentijevich, I., Sidiropoulos, P., Boumpos, 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* 345:1326-1332
21. **Grateau, G., 2004.** Clinical and genetic aspects of the hereditary periodic fever syndromes: *Rheumatology* 43: 410-415
22. **Grateau, G., Jeru, I., Rouaghe, S., Cazeneuve, C., Ravet, N., Duquesnoy, P., Cuisset, L., Dode, C., Delpech, M., Amsellem, S., 2005.** Amyloidosis and auto-inflammatory syndromes: *Current Drug Targets-Inflammation and Allergy* 4:57-65
23. **Gurman, A.B., Nahir, A.M., Moscovici, Y.B., 2006.** Vasculitis in siblings with familial Mediterranean fever: a report of three cases and review of the literature: *Clin Rheumatol* DOI 10. 1007/s10067-006
24. **Haznedaroglu, S., Ozturk, M.A., Sancak, B., Goker, B., Onat, A.M., Bukan, N., Ertenli, I., Kiraz, S., Calguneri, M., 2005.** Serum interleukin-17 and interleukin-18 levels in familial Mediterranean fever: *Clin Exp Rheumatol* 23:77-80

25. **Janeway, T.C., Rosenthal, H.O., 1908.** Anusual paroxymal syndrome, probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism: *Trans Assoc Am Pyhys* 23:504-18
26. **Joost, P.H., Drenth, M.D., Jos, W.M., Van Der Meer, M.D., 2001.** Hereditary Periodic fever: *N Engl J Med* 345:1748-1757
27. **Kastner, D.L., 2005.** Hereditary periodic fever Syndromes: *American Society of Hematology* 74-81
28. **Koklu, S., Ozturk, M.A., Balci, M., Yuksel, O., Ertenli, I., Kiraz, S., 2005.** Interferon-gamma levels in familial Mediterranean fever: *Joint Bone Spine* 72:38-40
29. **Kone' Paut, I., Dubuc, M., Sportouch, J., Minodier, P., Garnier, J.M., Toutitou, I., 2000.** Phenotype-genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features: *Rheumatology* 39:1275-1279
30. **Koşan, C., 2003.** Ailevi Akdeniz ateşine tanısal yaklaşım: *AÜTD* 35:1-6
31. **Korkmaz, C., Özdoğan, H., Kasapçopur, Ö., Yazıcı, H., 2002.** Acute phase response in familial Mediterranean fever: *Ann Rheum dis* 61:79-81
32. **Kutlay. S., Sengul, S., Keven, K., Ertürk, S., Erbay, B., 2006.** Two sisters with familial Mediterranean fever: lack of correlation between genotype and phenotype: *J Nephrol* 19:104-107
33. **Leibovitz, A., Lidar, M., Baumohl, Y., Livneh, A., Segal, R., 2006.** Colchicine therapy and cognitive status of elderly patients with familial Mediterranean fever: *Isr Med Assoc J* 8: 469-472
34. **Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D., Zaks, N., Kees, S., Lidar, T., Migdal, A., Padeh, S., Pras, M., 1997.** Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever: *Arthritis Rheum* 40:1879-1885
35. **Livneh, A., Langevitz, P., Shinar, Y., Zaks, N., Kastner, D.L., Pras.M., Pras, E., 1999.** MEFV mutation analysis in patients suffering from amiloidosis of familial Mediterranean fever: *Int j Exp Clin Invest* 6:1-6
36. **Livneh, A., Langevitz, P., 2000.** Diagnostic and treatment concerns in familial Mediterranean fever: *Bailleres Best Pract Res Clin Rheumatol* 14:477-498
37. **Livneh,A., 2006.** Amiloidosis of familial Mediterranean fever (FMF): insights to FMF phenotype II: *Harefuah* 145 (10):743-748
38. **Majeed, H.A., El,Khateeb, M., El- Shanty, M., Rabaiha, Z.A., Tayeh, M., Najib, D., 2005.** Spectrum of familial Mediterranean genes in Arabs: report of a large series: *Semin Arthritis Rheum* 34:813-818

39. **Maltzner, Y., Abedat, S., Shapio, E., Eisenberg, S., Calco, S., Azar, Y., Ürieli-Shoval, S., 2000.** Expression of familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures: *Blood* 96:727-731
40. **Mansfield, E., Chae, J.J., Komarow, H.D. Bortz, M.T., Frucht, D.M., Aksentijevich, I., Kastner, D.L., 2001.** The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments: *Blood* 98: 851-859
41. **Meroni, G., Diez-Roux, G., 2005,** TRIM/RBCC, a novel class of 'single protein RING finger' E3 ubiquitin ligases: *Bioessays* 27:1147-1147
42. **Mimouni.A., Magal, N., Stoffman, N., Shoat, T., Minosian, A., Krasnov, M., Halpern, G.J., Rotter, I.J., Fischel-Ghodsian, N. Danon, Y.L., Shoat, M., 2000.** Familial Mediterranean fever: effects of genotype and ethnicity on inflammatory attacks and amyloidosis: *Pediatrics* 105(5):70-79
43. **Musabak, U., Sengül, A., Oktenli, C., 2004.** Does immune activation continue during an attack-free period in familial Mediterranean fever?: *Clin Exp Immunol* 138:526-533
44. **Nakhaei, S., Talachian, E., Bidari, A., 2005.** Familial Mediterranean fever: unusual age of presentation and the role of genetic diagnosis: *Arch Iranian Med* 8:56-59
45. **Niel, E., Scherrmann, J.M., 2006.** Colchicine today: *Joint Bone Spine* 73:672-678
46. **Notarnicola, C., Mana, R., Rey, J., Touitou, I., 2001.** The first nonsense mutation in familial Mediterranean fever: *Hum Mutat* 17:79
47. **Notarnicola, C., Didelot, M.N., Kone-Pout, I., Seguret, F., Demaille, J., Touitou, I., 2002.** Reduced MEFV Messenger RNA expression in patients with familial Mediterranean fever: *Arthritis Rheum* 46:2785-2793
48. **Onen, F., 2006.** Familial Mediterranean fever: *Rheumatol Int* 26:489-496
49. **Örün, E., Yalçınkaya, F., Özkaya, N., Akar, N., Gökçe, H., 2002.** Ailevi Akdeniz ateşi (FMF) hastalığında akut faz yanıtı ile tümör nekrozis faktör- $\alpha$ , interlökin-8 ve interlökin-6 düzeylerinin değerlendirilmesi: *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 55:123-128
50. **Örün, E., Yalçınkaya, F., 2003.** Türk tıbbında ailevi Akdeniz ateşi hastalığı ve amiloidoz: *Türk Nefroloji Dializ ve Transplantasyon Dergisi* 12:1-7
51. **Özvarış, B.Ş., Koçoğlu, G.O., Akın, A., 1998.** Türkiye'de akraba evlilikleri: 1998 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması İleri Analiz Sonuçları
52. **Padeh, S., 2005.** Periodic fever syndromes: *Pediatr Clin North Am* 52: 577 - 609
53. **Pirson, Y., 2003.** From renal amyloid deposits to the identification of the culprit genes: *J Nephrol* 16:427-430
54. **Pras. E., Aksentijevich, I., Gruberg, L., Balow, J.E., Prosen, L., Dean, M., Steinberg, A.D., Pras, M., Kastner, D.L., 1992.** Mapping of a gene Causing Familial

- Mediterranean fever to the Short arm of Chromozome 16: *New Engl J Med* 326:1509-1513
55. **Pugnere, D., Ruiz, M., Menthiere, C.S., Masdoua B., Demaille, J., Touitou, I., 2003.** The MetaFMF web site: a high quality tool for meta-analysis of FMF: *Nucleic Acids Research* 31:286-290
  56. **Rabinovitch, O., Zemer, D., Kukia, E., Sohar, E., Mashrach, S., 1992.** Colchicine treatment in conception and pregnancy: two hundred thirty one pregnancies in patients with familial Mediterranean fever: *Am J Reprod Immunol* 28:245-246
  57. **Reimann, H.A., 1948.** Periodic disease. Probable syndrome including periodic fever, benign paroxymal peritonitis, cyclic neutropenia and intermittent arthralgia: *JAMA* 136:239
  58. **Rigante, D., La Torraca, I., Avallone, L., Pualiese, A.L., Gaspari, S., Stabile, A., 2006.** The pharmacologic basis of treatment with colchicine children with familial Mediterranean fever: *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 10:173-178
  59. **Ross, J.J., 2006.** Goats, Germs, and Fever: Are the pyrin mutations responsible for familial Mediterranean fever protective against Brucellosis?: *Medical Hypoteses Article* in press
  60. **Sayarlioglu, H., Erkok, R., Sayarlioglu, M., Dogan, E., Soyoral, Y., 2006.** Succesful treatment of nephrotic syndrome due to FMF amiloidosis with azathioprine : report of three Turkish cases: *Rheumatol. Int.* 27:197-206
  61. **Sarkisiyan, T., Ajrapetyan, H., Shahsuvaryan, G., 2005.** Molecular study of FMF patients in Armenia: *Current Drug Targets- Inflammation and Allergy* 4:113113-116
  62. **Seyahi, E., Ozdogan, H., Celik, S., Ugurlu, S., Yazici, H., 2006.** Treatment options in colchicine resistant familial Mediterranean fever patients: *Clin ExpRheumatol* 24: 99-103
  63. **Siegal, S., 1945.** Benign paroxymal peritonitis : *Ann Intern Med* 23:1-21
  64. **Srinivasula, M., Poyet, J.L., Razmara, M., Data, P., Zhang, Z., Alnemri, E.S. 2002.** The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1: *The Journal of Biological Chemistry* 277(24):21119-21122
  65. **Sohar, E., Pras, M., Heler, J., 1961.** Genetics of familial Mediterranean fever: *Arch Intern Med* 107:529-538
  66. **Stehlik, C., Lee, S.H., Dorfleutner, A., Stassinopoulos, A., Sagara, J., Reed, J.C., 2003.** Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain is a regulator of procaspase-1 activation: *The Journal of Immunology* 171:6154-6163
  67. **Stehlik, C., Reed, J.C., 2004.** The Pypin connection: novel players in innate immunity and inflammation: *J Exp Med* 200(5):551-558

68. **The French FMF Consortium,1997.** A candidate gene for familial Mediterranean fever: *Nat Genet* 17:25-31
69. **The International FMF Consortium,1997.** Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever: *Cell* 90:797-807
70. **Topaloğlu, R., Ozaltın, F., Yılmaz, E., Ozen, S., Balci, B., Besbas, N., Bakkaloğlu, A., 2005.** E148Q is a disease-causing MEFV mutation: a phenotypic evaluation in patients with familial Mediterranean fever: *Ann. Rheum. Dis.* 64: 750-752
71. **Touitou, I., 2001.** The spectrum of familial Mediterranean (FMF) mutations: *European Journal of Human Genetics*9:473-483
72. **Touitou, I., Lesage, S., Mcdemott, M., Cuisset, L., Hoffman, H., Dade, c., Shoam, N., Aganna, E., Hugot, J.P., Wise, C., Waterham, H., Pugnere, D., Demaille, J., Menthiere, C.S., 2004.** Infervers: an evolving mutation database for auto-inflammatory syndromes: *Human Mutation* 24:194-198
73. **Vinceneux, P., Pouchot, J., 2005.** From familial Mediterranean fever to amiloidosis: *Presse Med* 34(13): 958-966
74. **Yalçınkaya, F., Çakar, N., Mısırlıoğlu, M., Tümer, N., Akar, N., Tekin, M., Taştan, H., Koçak, H., Özkaya, N., Elhan, A.H., 2000.** Genotype-phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial Mediterranean fever: evidence for mutation independent amiloidosis: *Rheumatology* 39:67-72
75. **Yılmaz, E., Ozen, S., BALci, B., Duzova, A., Topaloğlu, R., Besbas, N., Saatci, U., Bakkaloğlu, A., Ozguc, M., 2001.** Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population: *European Journal of Human Genetics* 9: 553-555
76. **Zaks, N., Shinar, Y., Padeh, S., Lidar, M., Mor, A., Langevitz, P., Pras, E., Livneh, A., 2003.** Analysis of three most common MEFV mutations in 412 patients with familial Mediterranean fever. *Isr. Med. Assoc. J.* 5: 592-594

## 6. ÖZGEÇMİŞ

Sivas, 1983 doğumlu Binnur KÖKSAL, ilk ve orta öğrenimini sırasıyla Sivas Gazi Paşa İlk Öğretim okulu (1989-1994), Sivas Behram Paşa Orta Okulu (1994-1997) ve Sivas Lisesi'nde (1997-2000) tamamladı. 2000 yılında kazandığı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Biyoloji Bölümü' nü 2004 senesinde bitirdi. 2004–2005 öğretim yılı bahar dönemi Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. 2006 yılında C.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda biyolog olarak çalışmaya başladı.