



**FMF (AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ) HASTALARINDA
İNTERLÖKİN-10 (-1082,-819,-592) VE
TÜMÖR NEKROZ FAKTÖRÜ (TNF)- α (-308)
GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gülşen GÜÇLÜ

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. İskender PARMAKSIZ
Yrd. Doç. Dr. Ali AKBAŞ**

**2014
Her hakkı saklıdır**

**T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**FMF (AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ) HASTALARINDA
İNERLÖKİN-10 (-1082,-819,-592) VE
TÜMÖR NEKROZ FAKTÖRÜ (TNF)- α (-308)
GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gülşen GÜÇLÜ

**TOKAT
2014**

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. İskender PARMAKSIZ ve Yrd.Doç. Dr. Ali AKBAŞ danışmanlığında, Gülşen GÜÇLÜ tarafından hazırlanan bu çalışma 09.09.2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr.Necmettin YILMAZ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Hüseyin ÖZYURT

İmza:

Üye: Doç. Dr. İskender PARMAKSIZ

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ali AKBAŞ

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Osman ŞALIŞ

İmza:

Yukarıdaki Sonucu Onaylarım



09.09.2014

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Gülşen GÜÇLÜ

ÖZET

Doktora Tezi

FMF (AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ) HASTALARINDA İNERLÖKİN-10 (-1082,-819,-592) VE TÜMÖR NEKROZ FAKTÖRÜ (TNF)- α (-308) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülşen GÜÇLÜ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışmanlar: Doç. Dr. İskender PARMAKSIZ
Yrd. Doç. Dr. Ali AKBAŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), periyodik karın ağrısı, ateş, artrit, poliserözit ve deri döküntüleri ile karakterize olan, otozomal resesif geçişli enflamatuar bir hastalıktır. Hastalığın oluşum mekanizmasında, çevresel ve genetik birçok faktörün yer aldığı bilinmektedir. Bu tez çalışmasında İnterlökin-10 (-1082,-819,-592) ve Tümör Nekroz Faktörü- α -308 gen polimorfizminin araştırılarak, bu genlerin hastalık oluşumuna olan etkisinin açıklanması hedeflenmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere 100 FMF hastası ve 112 kontrol grubu için örnekler alınmış ve bu örneklerin Real-Time Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemi ile FMF hastalarında ve kontrol gruplarında, İnterlökin-10 (-1082 G/A, -592 C/A ve 819 C/T) ve Tümör Nekroz Faktörü- α (308 G/A) gen polimorfizmleri araştırılmıştır. Elde edilen verilerde, GCC, ACC, ATA haplotiplerinin yanı sıra GTA haplotipine de rastlanmış ancak, genotip ve allel frekanslarına bakıldığında istatistik açıdan FMF ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. TNF- α ve IL-10 genotiplerinin ilişkili analizine bakıldığında IL-10 GCC⁺/GCC⁻(orta)/TNF308- α (A/G) (yüksek) olduğu durumda istatistiksel olarak bir anlam bulunmuştur (p=0,014). Ancak tek başına bu verinin hastalık üzerinde majör etki yapmadığı öngörülmüştür. Sonuç olarak, IL-10-1082,-819,-592 ve TNF- α -308 gen polimorfizminin FMF hastalığına yatkınlık oluşturmada etkin rol oynamadığı ve hastalığın patogeneğinde bu polimorfizmlerin tek başına bir risk faktörü oluşturmadıkları kanısına varılmıştır. Enflamatuar bir hastalık olan FMF'in antienflamatuar ve proenflamatuar sitokinler ile genetik bağlantılarını aydınlatmak amacıyla yapılan bu çalışmanın, ileride IL-10 ile bağlantılı diğer sitokinler ile FMF hastalığı arasındaki ilişkiyi açıklamakta yardımcı olacağı düşünülmektedir.

2014, 67 sayfa

Anahtar Kelimeler: FMF, İnterlökin-10, TNF- α , Genotip, Polimorfizm, qRT-PCR

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EVALUATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA-308 (TNF- α) AND INTERLEUKIN-10 (-592, -819 AND -1082) POLYMORPHISMS IN FMF (FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER) PATIENTS

Gülşen GÜÇLÜ

**Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Supervisors: Assoc. Prof. Dr. İskender PARMAKSIZ
Asst. Prof. Dr. Ali AKBAŞ**

Familial Mediterranean Fever (FMF), which is characterized by periodic abdominal pain, fever, arthritis, polyserositis and skin rash, is an autosomal recessive inherited inflammatory disease. It is known that a lot of environmental and genetic factors take place in the pathogenesis of disease. In this thesis it was aimed to analyze the polymorphism of Interleukin-10 (-1082,-819,-592) and Tumor Necrosis Factor- α -308 and to examine their effects on this disease. For in this study used, the blood samples were taken from 100 FMF patient and 112 control group and the samples were studied for the polymorphisms by Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR). Both in FMF patients and control groups Interleukin-10 (-1082 G/A, -592 C/A and 819 C/T) and Tumor Necrosis Factor- α (308 G/A) gene polymorphisms were investigated. Besides GCC, ACC, ATA haplotypes we also reached GTA haplotype but when we look upon allele frequencies there was no significant differences statically between patients and control groups. In TNF- α and IL-10 combined genotype analyses, IL-10 GCC⁺/GCC⁻(medium)/TNF308- α (A/G)(high) were found statistical significance (p=0.014). However, It was projected that this data was not make a major effect on disease. As a result, there was no association between FMF disease familiarity and IL-10-1082,-819,-592 and TNF- α -308 gene polymorphism. In this study, we found out the genetic relations between anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokine and an inflammatory disease FMF and it is thought that the data obtained from this study will help future studies.

2014, 67 pages

Keywords: FMF, Interleukin-10, TNF- α , Genotype, Polymorphism, qRT- PCR

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında akademik ve manevi anlamda, beni her zaman destekleyen, tezimin olduğu kadar kişiliğimin olgunlaşmasına da büyük katkılar sağlayan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum saygı değer danışman hocam Doç.Dr. İskender PARMAKSIZ'a ve ikinci danışmanım Yrd.Doç.Dr. Ali AKBAŞ'a, tez izleme komitesinde bulunan ve tezimin yönlenmesine değerli fikirleriyle destek veren Prof.Dr. Necmettin YILMAZ, Doç. Dr. Hüseyin ÖZYURT ve Yrd.Doç.Dr. Osman ŞALIŞ'a, çalışmalarımın en başından en sonuna kadar, değerli bilgileriyle, maddi manevi desteğiyle, çok büyük emeği olan kıymetli hocam Öğr.Gör.Dr. İsmail BENLİ'ye, manevi desteklerini her zaman hissettiğim Yrd.Doç.Dr. Tuğba GÜRKÖK, Doç.Dr. Bilge Hilal ÇADIRCI, Doç.Dr. İbrahim TÜRKEKUL ve Yrd.Doç.Dr. Özlem DOĞAN'a, yol arkadaşlarım Arş.Gör. Elif KAYMAK ve Arş. Gör. Mesut KOYUNCU'ya, zor zamanlarımda hep yanımda olan Tunceli Üniversitesindeki değerli mesai arkadaşlarım Öğr. Gör. Berna KOÇAK, Öğr. Gör. Nuray YILDIRIM, Öğr. Gör. Emine EKŞİ ve Öğr. Gör. Özal YILDIRIM başta olmak üzere Tunceli Meslek Yüksekokulu ailesine ve son olarak hayatım boyunca yolumu aydınlatan, emeğini, sevgisini her zaman hissettiren canım aileme ve kıymetli eşime sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 2013/15 proje numarasıyla Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Gülşen GÜÇLÜ

Eylül 2014

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Hastalığı	2
2.1.1. Tanımı	2
2.1.2. Tarihçe	2
2.1.3. Epidemiyoloji	3
2.1.4. FMF Genetiği	4
2.1.5. FMF’de Fenotip- Genotip İlişkisi	7
2.1.6. Pirin Proteininin Yapısı ve FMF İle İlişkisi	8
2.1.7. Hastalığın Oluşum Mekanizması	10
2.1.8. Klinik Bulgular	11
2.1.9. Amiloidozis	12
2.1.10. Tanı ve Tedavi	13
2.2. Sitokinler	14
2.3. Genetik Polimorfizm	18
2.3.1. Real-Time PCR (Gerçek Zamanlı PCR)	19
2.4. İnterlökin-10 Ve Polimorfizm	23
2.5. TNF- α	28
3. MATERYAL ve METOD	32
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi	32
3.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	32
3.3. DNA İzolasyonu	32
3.4. Polimorfizmlerin Tespit Edilmesi	33

3.5. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. Demografik Özellikler	45
4.2. Genotip Frekansları	45
4.3. Allel Frekansları	47
4.4. Haplotip Analizi	48
4.5. TNF α /IL-10 genotiplerinin ilişkili analizi	49
4.6. Diplotip Analizi	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	67

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat derece
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
mM	Mikromolar
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
Pmol	Pikomol
kDa	Kilo dalton
FMF	Familial Mediterranean Fever
AAA	Ailesel Akdeniz Ateşi
MEFV	MEDITERRANEAN FEVER =Akdeniz Ateşi geni
AA	Amiloid Protein A
b-ZIP	Temel Lösin fermuar bölgesi
CC	Çift kıvrımlı
ASC	Apoptozis ilişkili nokta benzeri protein
IL	İnterlökin
CARD	Kaspaz stok bölgesi
PYD	Pirin domaini
DD	Ölüm Domaini
DED	Ölüm Eftör Bölgesi
PSTPIP	Prolin-Serin-Treonin fosfataz ilişkili protein
NF-κB	Nüklear Faktör kappa B
RNA	Ribonükleik asit
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
C5a	Tamamlayan komplement C5
MDR	Çoklu İlaç Direnci
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
PAI	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
HSP	Henock Schönlein Purpurası

Simgeler ve Kısaltmalar Açıklama

SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NTP	Nükleotid trifosfat
dNTP	Dinükleotid trifosfat
AP-PCR	Rastgele Primer Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VNTR	Farklı Sayıda Ardarda Tekrar Eden Dizilimler
Rep-PCR	Tekrarlı Element Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PCR	Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AFLP	Çoğaltımlı Parça Uzunluk Polimorfizmi
RFLP	Rekstiriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SDA	Zincir Değişim Amplifikasyonu
TMA	Transkripsiyon ilişkili Amplifikasyon
NASBA	Nükleik Asit Dizi Aracılı Amplifikasyon
6-FAM	6-Karboksifloresin
TAMRA	6-Karboksitetrametil rodamin
FRET	Floresans Rezonans Enerji Transferi
JAK-STAT	Janus kinaz/sinyal dönüştürücü aktivatörü ve transkripsiyon aktivatörü
TLR	Toll benzeri reseptörü
HLA	İnsan Lökosit antjeni
EDTA	Etilendiaminetetra asetik asit
N	Birey sayısı
PAN	Poliarteritis Nodosa
SAA	Serum Amiloid A Proteini
MICA	Majör Histokompatibilite Kompleksi Sınıf-1 Gen A
IFN	İnterferon
TGF-β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü beta
DNA	Deoksiribonükleik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa	
Şekil 2.1	Kromozom 16 ve MEFV geni	4
Şekil 2.2	MEFV geni üzerinde görülen mutasyonların şematik gösterimi	5
Şekil 2.3	Pirin proteinin şematik gösterimi	8
Şekil 2.4	Pirin bölgesinin ASC, CARD bölgeleri ve kaspaz-1 ile olan ilişkisi ve sonuçta oluşan IL-1 β sitokini ve enflamasyon oluşum şeması	10
Şekil 2.5	Amiloidosis oluşum mekanizması	13
Şekil 2.6	Sitokinlerin tüvelendikleri hücreler ve birbirleri ile olan ilişkileri	15
Şekil 2.7	Bireyler arasında görülebilen tek nükleotid polimorfizmleri	18
Şekil 2.8	FRET probleminin çalışma prensibi	22
Şekil 2.9	Kromozom 1 üzerinde yer alan interlökin-10 geni	23
Şekil 2.10	IL-10'un enflamatuvar yanıt oluşturmada TNF- α ile ilişkisi	24
Şekil 2.11	Kromozom 6 üzerinde TNF geninin yerleşimi ve TNF geni üzerinde görülen SNP'ler	29
Şekil 2.12	TNF- α sinyal yolağı	29
Şekil 3.1	IL-10-1082 (G/A) için amplifikasyon eğrisi	37
Şekil 3.2	IL-10-1082 (G/A) için erime eğrisi	38
Şekil 3.3	IL-10-1082 (G/A) için erime pikleri	38
Şekil 3.4	IL-10-819 (C/T) için amplifikasyon eğrisi	39
Şekil 3.5	IL-10-819 (C/T) için erime eğrisi	40
Şekil 3.6	IL-10-819 (C/T) için erime pikleri	40
Şekil 3.7	TNF- α -308 (G/A) için amplifikasyon eğrisi	41
Şekil 3.8	TNF- α -308 (G/A) için erime eğrisi	42
Şekil 3.9	TNF- α -308 (G/A) için erime pikleri	42
Şekil 3.10	IL-10-592 (C/A) için amplifikasyon eğrisi	43
Şekil 3.11	IL-10-592 (C/A) için erime eğrisi	44
Şekil 3.12	IL-10-592 (C/A) için erime pikleri	44

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa	
Tablo 2.1	Tanı Koymada kullanılan Tel-Hashomer Kriterleri	13
Tablo 2.2	İnterlökin ailesi ve buldukları kromozom bölgeleri	16
Tablo 2.3	FMF hastalığında bugüne kadar araştırılmış Sitokin Polimorfizmleri	19
Tablo 2.4	Günümüzde uygulanan PCR teknikleri	20
Tablo 2.5	Farklı ülkelerdeki farklı hastalıklarda IL-10 -1082 (G/A),-592 (C/A) ve -819 (C/T) polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansı dağılımları	25
Tablo 2.6	Kanser oluşumu ve İmmünomodülasyonda TNF'nin rolü	30
Tablo 3.1	IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T), IL-10-592 (C/A) ve TNF- α -308 (G/A) Polimorfizmlerin tespitinde kullanılan primer ve prob dizileri	34
Tablo 3.2	IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizmlerinin tespiti için gerekli PCR koşulları	35
Tablo 3.3	IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü	35
Tablo 3.4	IL-10-592 (C/A) gen polimorfizminin tespiti için gerekli PCR koşulları	36
Tablo 3.5	IL-10-592 (C/A) gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü	36
Tablo 4.1	IL-10-1082 (G/A) genotip frekansları	45
Tablo 4.2	IL-10-819 (C/T) genotip frekansları	46
Tablo 4.3	IL-10-592 (C/A) genotip frekansları	46
Tablo 4.4	TNF- α -308 (G/A) genotip frekansları	46
Tablo 4.5	IL-10-1082 allel frekansları	47
Tablo 4.6	IL-10-819/592 allel frekansları	47
Tablo 4.7	TNF- α -308 allel frekansları.	48
Tablo 4.8	IL-10 genotiplerinin kontrol ve FMF grubunda karşılaştırmalı dağılımı	48
Tablo 4.9	IL-10 haplotiplerinin kontrol ve FMF grubunda karşılaştırmalı dağılımı	49
Tablo 4.10	Kontrol ve FMF grubunda TNF α /IL-10 polimorfizminin kombinasyonu	49
Tablo 4.11	IL-10 haplotiplerinin FMF ve Kontrol gruplarındaki zigotik dağılımı	50

1. GİRİŞ

FMF (Ailesel Akdeniz Ateşi) hastalığı, otozomal resesif geçişli ve genellikle Ortadoğu civarında yaşayan insanlarda görülen enflamatuvar bir hastalık olup, periyodik ateş, peritonit, plörezi, artrit ve erizipel benzeri cilt döküntüleri ile karakterizedir (Sohar ve ark., 1967; Ben-Chetrit ve ark. 1998).

Hastalığın oluşumunda mutasyonlar önemli yer tutmaktadır. MEFV geni üzerinde oluşan mutasyonların hastalığı tetiklediği düşünülmektedir. Bu mutasyonların MEFV geninin yapısını değiştirerek pirin proteinin fonksiyonunu bozması üzerine, enflamasyon oluşumu meydana gelmektedir (Wang ve ark., 2002; McDermott ve ark., 2004). Türk kökenli FMF hastalarına ait genetik bilginin henüz yetersiz olması, bu popülasyonda görülen mutasyonların heterojen olduğuna dair verilerin olmasına rağmen kesin bir yargıya varılmasını engellemektedir (Akarsu ve ark., 1997; Akar ve ark., 2000).

Sitokinler enflamatuvar yanıtta önemli görevler üstlenen immün sistemin savunma mekanizmasında yer alan çok geniş bir protein ailesidir. Özellikle lökositler tarafından üretilen interlökinler, bu ailenin önemli bir koludur (Bidwell ve ark., 1999). Proenflamatuvar ya da antienflamatuvar özellik taşıyan interlökinler, enflamasyon sonucu dokuda oluşacak hasarın durdurulması ya da dokunun uyarılarak enflamatuvar yanıt oluşturması görevini üstlenmektedir (Agnihotri ve ark., 2012).

Birbirinden farklı göreve sahip olan IL-10 ve TNF- α , enflamasyon oluşumunda zıt görev yapar. Antienflamatuvar IL-10, dokuda enflamasyon oluşumuna engel teşkil ederken, proenflamatuvar TNF- α , enflamasyon oluşumu için dokuları uyarır (Ross ve ark., 1999; Abbas ve ark., 2005). IL-10 ve TNF- α gen polimorfizminin farklı topluluklarda, farklı hastalıklara yatkınlık oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Negoro ve ark., 1999; Summers ve ark., 2000; Poole ve ark., 2001).

Çalışmamızda Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran kişilerden, FMF hastalığı ön teşhisi konan hastalarda, İnterlökin-10 (-1082,-819,-592) ve TNF- α -308 gen polimorfizminin araştırılarak, bu genlerin hastalık oluşumuna olan etkisinin açıklanması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Hastalığı

2.1.1. Tanımı

Familial **M**editerranean **F**ever (FMF-Ailesel Akdeniz Ateşi-AAA) hastalığı genellikle Yahudiler, Türkler, Araplar ve Ermenilerde sık görülen, diğer bir deyişle Akdeniz bölgesi çevresindeki popülasyonların öncelikli olarak etkilendiği otozomal resesif geçişli enflamatuvar bir hastalıktır. Hastalık, tekrarlayan ateşle beraber nükseden peritonit, plörit, artrit ya da erizipel benzeri bir deri hastalığı (yılancık hastalığı) ile karakterizedir (Sohar ve ark., 1967; Ben-Chetrit ve ark. 1998).

2.1.2. Tarihçe

Ailesel Akdeniz Ateşi hastalığı ilk defa 1908 yılında Janeway ve Mosenthal tarafından “paroksizmal peritonit” ismiyle tanımlanmıştır. Hastalık belirtisi olan tekrarlayan ateş, abdominal ağrı ve lökositoz, 16 yaşında Yahudi bir kız çocuğunda teşhis edilmiş ve bu olgu üzerine bir makale yayınlamışlardır (Janeway ve ark., 1908). 1945 yılında yine Yahudi kökenli bir grupta hastalığın teşhisi yapılmış ve hastalığa “Benign Paroksizmal Peritonit” adı verilmiştir (Siegal ve ark., 1945). Türkiye’de ise 1946 yılında bu çalışmaya atıfta bulunan Abrevaya Marmaralı, “Garip Bir Karın Sendromu” isimli yayını ile ilk kez FMF hastalığını ortaya koymuştur (Marmaralı, 1946).

Hastalığın bugünkü adı olan Ailesel Akdeniz Ateşi tanımı ise 1958 yılında Heller ve Sohar tarafından ilk kez kullanılmış ve 1961 yılında hastalık genetik açıdan incelendiğinde otozomal resesif geçişli olduğu gösterilmiştir (Heller ve ark., 1958; Thomas ve ark., 1975).

1972 yılında ise hastalığın tedavisinde kullanılan kolşisin ile hastalık ataklarını ve amiloidozun önlendiği tespit edilmiştir (Goldfinfer, 1984). Yapılan çalışmalar ile

hastalığın klinik özellikleri belirlenmiş ve ardından 1996 yılında pozisyonel klonlama yöntemi ile FMF gen lokusunun 16. Kromozomun kısa kolunda olduğu gösterilmiştir (The French FMF Consortium, 1996).

Hastalık günümüzdeki isminin yanı sıra “Tekrarlayan Kalıtsal Poliserözit”, “Periyodik Peritonit, “Tekrarlayan Poliserözit” isimleri ile de bilinmektedir (Schwartz ve ark., 1960; Ehrenfeld ve ark.,1961; Barakat ve ark.,1986).

2.1.3. Epidemiyoloji

Dünya üzerinde ortalama 170.000 insanı etkileyen otozomal resesif kalıtım gösteren FMF, daha çok Doğu Akdeniz toplumlarından olan Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar’da sık görülmekle birlikte; daha az sıklıkta Japonya, Almanya, Polonya, Avustralya ve Brezilya kökenli insanlarda da görülmüştür (Gershoni-Baruch ve ark., 2001; Haghghat ve ark.,2006; Lidar ve ark.,2007).

Taşıyıcı frekansının popülasyona göre değişim gösterdiği bilinmektedir. FMF, prevalansı Askenazi olmayan Yahudilerde 1/250-1/500 arasında değişim gösterirken, taşıyıcılık oranı 1:5’dir (Ben-Chetrit ve ark. 1998). Lübnan’da yaşayan Ermenilerde prevalans, Askenazi olmayan Yahudilerle benzer şekilde 1/500 olarak bulunmuş olup, taşıyıcılık oranı 1:7’dir (Önen, 2006; Lidar ve ark., 2007). Türklerde ise tahmini prevalans 1/1000 olarak bulunurken, taşıyıcılık oranı 1:5 olarak hesaplanmıştır (Özen ve ark., 1998; Turkish FMF Study Group, 2005).

Türkiye’de bu hastalığın görülme oranı yüksektir ve hastaların büyük bir kısmı Orta Anadolu kökenlidir (Aksentijevich ve ark., 1999). Orta Anadolu’da prevalansın 1:395 kadar yüksek olması da bunu desteklemektedir (Önen ve ark., 2004). Hastalık cinsiyete göre pek farklılık göstermese de yapılan çalışmalar sonucunda, erkeklerde hastalığın görülme oranı kadınlara göre daha fazla olarak bildirilmiştir (Sohar ve ark., 1967; Tunca ve ark., 2005).

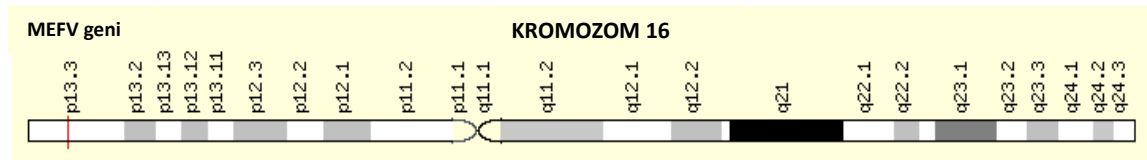
Genetik açıdan bakıldığında Türk kökenli hastalara ait bilgiler sınırlı miktardadır. Yapılan çalışmalar bu toplumda görülen mutasyonların heterojenliğini desteklese de kesin bir kanıya henüz varılamamaktadır (Akarsu ve ark.,1997; Akar ve ark., 2000).

1996 yılında Uluslararası FMF Konsorsiyumu ve hemen ardından düzenlenen Fransız FMF Konsorsiyumunun yapmış olduğu çalışmalarda FMF geni belirlenmiş ve hastalığın en önemli belirtilerinden birinin ateş olmasından dolayı bu gene, Akdeniz ateşi anlamına gelen MEFV (MEditerraneanFeVer / MIM 249100) adı verilmiştir (The French FMF Consortium, 1996; The International FMF consortium, 1997).

MEFV mutasyonların dağılımına bakıldığında yüzyıllar öncesinde dahi bu mutasyonların varlığından söz edilebilmektedir. En sık görülen MEFV mutasyonlarından M694V ve V726A'nın yaklaşık 2500 yıl önce de var olduğu, yapılan çalışmalar sonucu gösterilmiştir. O dönemde Akdeniz ve Ön Asya bölgelerinde yaşayan toplumların birbiri ile olan ilişkileri mutasyon dağılımındaki durum hakkında bize ışık tutmaktadır (Yepiskoposyan ve ark., 2007).

2.1.4. FMF Genetiği

1992 yılında Ailesel Akdeniz Ateşine ait genin tanımlanması ile yapılan çalışmalar farklı bir boyut kazanmıştır (Pras ev ark.,1992). 1997 yılında birbirinden bağımsız çalışmalar yürüten Uluslararası FMF konsorsiyumu ile Fransız FMF konsorsiyumu, 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde 10 ekzonluk, 15 kilobazlık ve 3505 nükleotitten oluşan ve pozisyonel klonlama tekniğini kullanarak bulmuş oldukları bu geni, MEFV (MediterraneanFeVer)geni olarak isimlendirmiştir (The French FMF Consortium, 1996; The International FMF consortium, 1997) (Şekil 2.1).

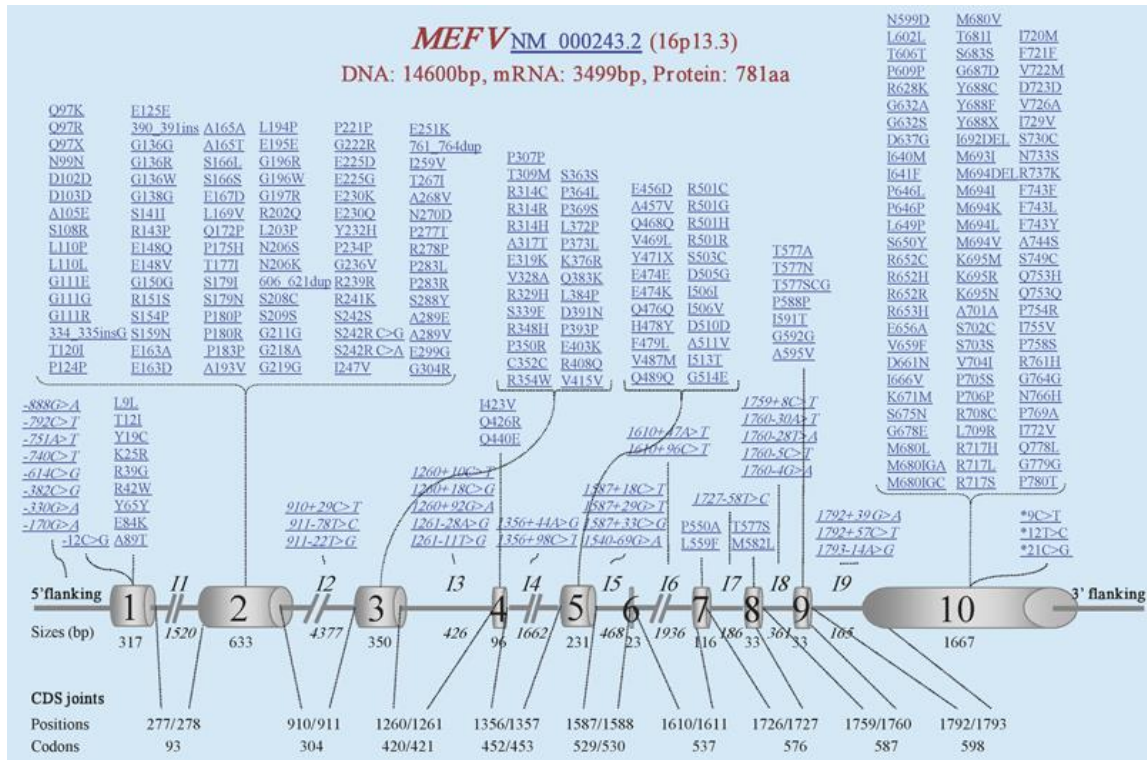


Şekil 2.1. Kromozom 16 ve MEFV geni (Anonim, 2014a).

MEFV geni, Pirin ya da Marenostirin adı verilen 781 aminoasitten oluşan bir protein sentezlemektedir. FMF hastalarında görülen klinik özelliklerin değişiklik

göstermesi, MEFV geni üzerinde özellikle mutasyon belirlenmesine yönelik çalışmaları daha cazip hale getirmiştir.

1999 yılından bu güne kadar 297 mutasyon tanımı yapılmıştır (Anonim, 2014a). Ancak bunların yalnızca bir kısmı FMF hastalarında görülmektedir. Özellikle 10. ekzon, bu mutasyonların en sık görüldüğü bölgedir ve çoğu yanlış anlamlı (missens) mutasyonlardır. 2. ve 5. ekzon'da 10. ekzona göre fazla mutasyon görülmemektedir ancak, bu varyantların pirin fonksiyonu üzerindeki etkisi de henüz bilinmemektedir (Şekil 2.2). Bu mutasyonların yaklaşık 150'si son 5 yıl içerisinde tespit edilmiş olup en sık görülen mutasyonlar M694V, M680I, V726A ve E148Q olarak belirlenmiştir (The International FMF consortium, 1997; The French FMF Consortium, 1996; Yılmaz ve ark.,2001; Aksentijevich ve ark.,2011).



Şekil 2.2. MEFV geni üzerinde görülen mutasyonların şematik gösterimi (Anonim,2014b).

MEFV geni üzerinde görülen mutasyonların çoğunda, aminoasit dizisinde bir değişiklik olduğu ancak, sentezlediği proteinde bir değişikliğe neden olmadığı

görülmüştür (Brik ve ark., 1999). Her popülasyonda aynı seviyede mutasyon yoğunluğundan söz etmek mümkün değildir, birbirinden farklı frekansa sahip olabilir (Tunca ve ark., 2005).

M694V mutasyonu, MEFV geni üzerinde görülen mutasyonların çoğunun bulunduğu 10. ekzonun 2080. Nükleotidinde adenin-guanin transisyonu, 694. kodon konumunda bulunan metiyonin-valin aminoasit değişimiyle gerçekleşmiş bir yanlış anlam (missense) mutasyondur (The International FMF consortium, 1997).

Homozigot olduğu durumlarda amiloidoz oluşumuna neden olan M694V, Türklerde %50 civarında görülürken, yaygın olarak Askenazi olmayan Yahudiler, Ermeniler ve Araplarda da görülmektedir (Akar ve ark., 2000; Yılmaz ve ark., 2003; Şahin ve ark., 2009).

M680I mutasyonu ise, 2040. Nükleotidde gerçekleşen guanin-sitozin değişiminin neden olduğu 680. Kodondaki metiyoninle izolösin yer değişimi ile meydana gelmektedir (The International FMF consortium, 1997). M694V'ye oranla Ermenilerde Türklerden daha sık görülen bu mutasyonun Türklerdeki prevalansı %12'dir (Akar ve ark., 2000).

V726A, yine 10.ekzonda görülen bir mutasyondur ve 2177. nükleotidde timinin sitozinle yer değiştirmesi neticesinde 726. Kodondaki valin-alanin değişimi ile oluşmaktadır. Amiloidoz oluşumu üzerindeki etkisi daha sınırlı olan bu mutasyon, özellikle Irak Yahudileri ve Ermenilerde daha yaygın görülür ve Türklerde görülme sıklığı hemen hemen M680I ile paralellik göstermektedir (Ben-Chetrit ve ark., 1998; Yalçınkaya ve ark., 2000).

İkinci ekzonda bulunan ve en sık görülen mutasyonlardan biri olan E148Q mutasyonu, 442. nükleotidde gerçekleşen guanin-sitozin değişimi ile gerçekleşir. Bu değişim sonunda 148. Kodonda glutamin, glutamat yerine geçer. Bu mutasyon Amiloidoz gelişimine neden olmadığı gibi, bunun bir sekans varyantı olduğu iddia edilmektedir (The International FMF consortium, 1997, Ben-Chetrit ve ark., 2000).

MEFV geni üzerinde son yıllarda yapılan çalışmaların hız kazanmasıyla, bu genin hem diğer hastalıklarla ilişkileri hem de gen üzerinde hastalığın oluşumuyla bağlantılı olarak mutlak etkisi olduğu düşünülen sitokinlerle ilişkileri ortaya konulmaya başlanmıştır.

MEFV genindeki mutasyonlar, allellerde bulunmalarına göre homozigot ve heterozigot şeklinde iki farklı biçimde görülmektedir. Heterozigotluk, tek bir allelde mutasyon bulunma durumu iken, homozigotluk, iki allelinde de aynı mutasyonu taşıma durumudur. FMF hastalarının genelinde homozigot ya da birleşik heterozigotluk varken, hiç mutasyon görülmeyen bireylerde de bu hastalık gözlenmiştir (Bernot ve ark., 1998).

2.1.5. FMF’de Fenotip- Genotip İlişkisi

Tam olarak genotip-fenotip ilişkisi açığa kavuşmamakla birlikte, FMF’de Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki farklı fenotipten bahsetmek mümkündür. Tip1’de enflamasyon ve serozit ve yineleyici kısa ataklar ile tanımlanırken, Tip 2 de tekrarlayan enflamasyon ve ateş öyküsü olmayan hastalarda ilk bulgu olarak amiloidoz ortaya çıkmaktadır (Sohar ve ark., 1967; Melikoğlu ve ark., 2000; Altunoğlu ve ark., 2013).

FMF’te gelişen amiloidoz AA tipi, sekonder veya reaktif amiloidozdur. Genotip/fenotip korelasyonun en belirgin olduğu durum, marenostin/pirin genindeki M694V/M694V homozigot mutasyondur. Bu mutasyonu taşıyan FMF hastalarında klinik daha ağır, ataklar daha sık, kolşisin gereksinimi daha fazla ve amiloidoz gelişimi önemli derecede daha yüksektir (Önen, 2006). Amiloidoz gelişim sıklığının daha yüksek oluşunun genetik özellikle doğrudan mı ilişkili olduğu yoksa bu mutasyonlu bireylerde hastalık seyrinin daha agresif olmasına mı bağlı olduğu noktası henüz karanlıktır. FMF’li hastalarda klinik yakınmalar ve hastalık ciddiyeti değişkendir (Aksentijevich ve ark. 1998; Önen ve ark., 2004).

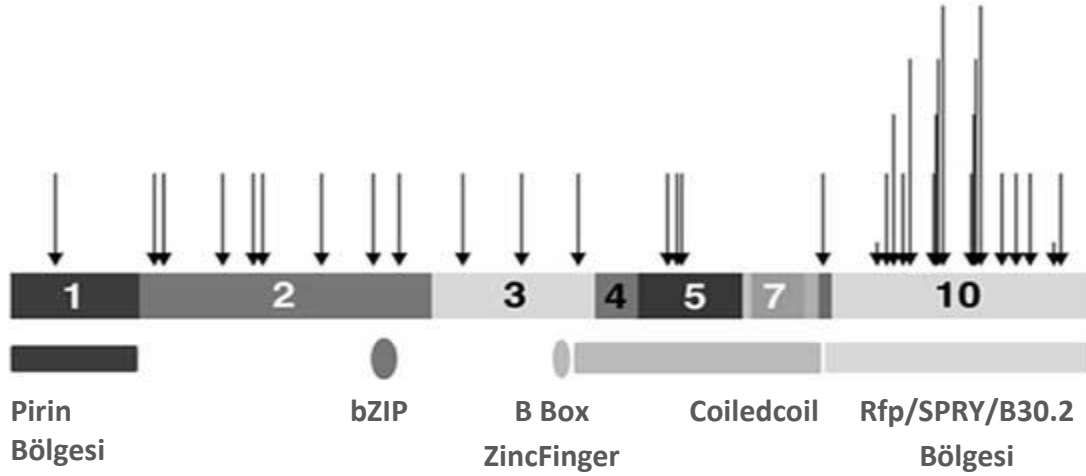
Fenotip-genotip ve etnik köken ilişkisini araştıran 2013 yılında yapılan bir çalışmada, FMF hastalığı taşıyan 242 Alman çocuk hastada 431 pirin mutasyonu, 22 farklı sekans varyantı ve bir yeni mutasyon tespit edilmiştir. Farklı etnik gruplardaki tipik mutasyon dağılımları net olarak kendini gösterdiği halde, istatistik olarak anlamlı bulunamadığı belirtilmiştir (Jeske ve ark., 2013).

Migita ve ark. (2014) FMF hastalığını taşıyan Japon hastalarda yaptığı çalışmada, klinik olarak tipik ve atipik FMF hastası olarak ikiye ayrılan FMF hastalarında, fenotip-genotip ilişkisini araştırmış ve sonuç olarak; MEFV ekzon 10

bölgesi mutasyonlarının, tipik FMF fenotipiyle ilişkisini, atipik FMF hastalarına göre daha anlamlı olarak bulmuştur.

2.1.6. Pirin Proteininin Yapısı ve FMF İle İlişkisi

MEFV geni tarafından kodlanan pirin (marenostin) proteini 86 kDa ağırlığında ve 781 aminoasitten oluşan MEFV genin kodlamış olduğu sitoplazmik bir protein olup, 5 farklı domain taşır. Bunlar; pirin, b-Zip, B-Box, CC(coiled-coil) ve PRY/SPRY(B30.2) bölgeleridir (Mariathasan, 2007) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Pirin proteininin şematik gösterimi. Proteine ait 5 bölge ve bu bölgelerin türevlendiği ekzonlar gösterilmektedir (Schaner ve ark., 2005).

Pirin proteini granülosit içerisindeki enflamasyon reaksiyonunu düzenler. Ayrıca, nükleer lokalizasyon sinyali de içeren bu protein, bir transkripsiyon faktörü gibi iş görmektedir.

Pirin'in yapısında değişim meydana gelmesi, domainlerde oluşan mutasyonlar neticesinde gerçekleşmektedir. Hastalıkla sonuçlanan mutasyonlar genelde C-terminal ucunda bulunan B30.2 domaininde oluşmaktadır. Bunun temel nedeni de bu bölgenin, bir apoptozis proteini olan kaspaz-1 ile bağlantılı olmasıdır (Papin ve ark., 2007).

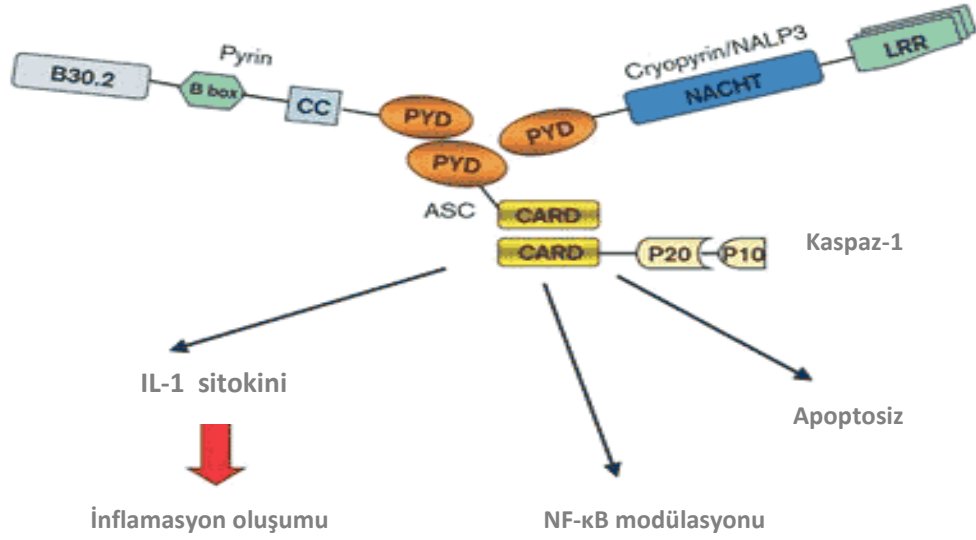
Çünkü bu bölgede meydana gelen bir mutasyon kaspaz-1'in enflamasyonun

temel sitokinlerinden biri olan interlökin 1 β (IL-1 β)'yı sürekli aktif halde tutmasına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu Kontrolsüz IL-1 β salınımının FMF hastalığı ile bağlantılı olduğu öne sürülmektedir (Mariathan, 2007). Ancak FMF ile mutasyonlar arasındaki ilişki hala tam olarak netlik kazanamamıştır.

Pirin, yapısal olarak incelendiğinde DeathFold süperfamilyasına bağlı bir protein olup, PYD, DD (Death Domain), DED (DeathEfektör Domaini), CARD (CaspaseCecruitment Domain) bölgeleri ile ilişkilidir (McDermott ve ark., 2004). Bu bölgelerin etkileşimi hücre içi sinyal iletimi için oldukça önemlidir (Pawson ve ark., 2000).

ASC (Apoptosis-associated Speck-like Protein with CARD Domain= apoptozis ilişkili nokta benzeri protein) ve PSTPIP (Proline-serine-threonine phosphatase-interacting protein= prolin-serin-treonin fosfataz ilişkili protein) proteinlerinin her ikisi de pirin ile etkileşir ve temel olarak her ikisi de sitozoliktir (Richards ve ark., 2001; Mansfield ve ark., 2001). PYD domaininin ASC'ye bağlanmasıyla, pirin interlökin-1 β sitokin (*IL-1 β*) oluşumunu regüle eder ve NF- κ B aktivasyonu ile birlikte apoptozisin düzenlenmesini sağlar. Kaspaz-1 in aktivasyonunu sağlayan bu etkileşim, pasif halde bulunan IL-1 β 'nin aktif forma dönüşümünü gerçekleştirir. Pirin varlığının hücrede normal seviyenin üzerine çıkması durumunda, kaspaz-1 seviyesi ve dolayısı ile aktif IL-1 β seviyesi artacaktır. Bu da apoptozisin baskılanmasına neden olacaktır. Sonuç olarak enflamasyon oluşum düzeyinde artış gözlenecektir (Wang ve ark., 2002; McDermott ve ark., 2004; Özen ve ark., 2014) (Şekil 2.4).

Ayrıca pirin, mikrotübüllerle birlikte lokalize olan moleküllerin N-terminal ucu ve aktindeki membranlar ile ilişkilidir. Bu durum, FMF tedavisinde kolşisinin etkisinin bu mikrotübüller üzerine olduğuna dair ipucudur (Mansfield ve ark., 2001). Bunun yanı sıra MEFV-mRNA'sı kemik iliği hücrelerinde belirlenememiştir. Bu durum pirin proteinin yalnızca olgun lökositlerin aktivasyonları sırasında eksprese edildiğini düşündürmektedir (The International FMF consortium, 1997).



Şekil 2.4. Pirin bölgesinin ASC, CARD bölgeleri ve kaspaz-1 ile olan ilişkisi ve sonuçta oluşan IL-1 β sitokini ve enflamasyon oluşum şeması (Srinivasula ve ark., 2001).

2.1.7. Hastalığın Oluşum Mekanizması

FMF hastalığı, akut fibril enflamatuvar atağın yanı sıra serozit ile karakterize olan ve pirin proteinini kodlayan MEFV geninde meydana gelen mutasyonlarla ilişkili bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır (Livneh ve ark., 1997). Henüz tam olarak hastalığın patogenezi bilinmese de oluşum mekanizmasında nötrofillerin kilit rol oynadığına dair birçok veri bulunmaktadır. FMF atakları boyunca nötrofil birikimi hastalığın karakteristik özelliklerinden biridir (Sarkisian ve ark., 1997). Bu birikim, daha çok MEFV geninin ekspresyonu ile ilişkilidir. Ancak atak görülmediği durumlarda da kemotaktik potansiyel ve nötrofillerin sağ kalımının mümkün olduğu belirtilmektedir.

FMF atakları boyunca nötrofillerin kemotaksisi ve istilası esnasında C5a'nın önemli kemotaktik aktivitelerinin olduğu gözlenmiştir. C5a inhibitörü, aktif hale gelmiş olan C5a dizisini nötr hale getirmek suretiyle FMF atakları sırasında oluşan nötrofil kemotaksisini engelleyerek enflamasyonu regüle eder (Özen ve ark., 1999).

Rüstemoğlu ve ark. (2011) MDR1 (Multi Drug Resistant 1) geninin, FMF hastalığının etiyojisi üzerinde, belirli etkilerin oluşumunda etkin olduğu ileri sürmüştür. Bunun yanı sıra, Apostolidou ve ark. (2012), atak geçirmeyen FMF hastalarının nötröfillerinde C5aR ve C5L2 genlerinin mRNA ekspresyonu ve genetik değişikliklerini araştırmıştır. İki reseptör geninde mutasyon gözlenmediği belirtilmiş ve genetik değişiklikler olduğu gözlenmiş olan C5aR1 geninin N279K polimorfik varyantı olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, FMF hastalarının nötrofillerinde C5L2 geninin düşük mRNA ekspresyonu gözlenmiştir. Nötrofillerin rekombinant C5a'nın bağlama kapasitesinin ve reaktif oksijen türlerinin üretimini sağlayabilmesinin FMF hastalarında ve sağlıklı kişilerde benzer olduğu ve N279K polimorfizminden ve C5L2'nin mRNA ekspresyonundan bağımsız olduğuna da değinilmiştir.

FMF hastalığının etiyojisini aydınlatmak amacıyla 2013 yılında yapılan başka bir çalışmada ise TNF- α ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 gen polimorfizminin hastalık ile ilişkisi araştırılmıştır. Sonuçta; FMF hastalığında TNF- α genotipi ve mutasyonu arasında bir ilişki bulunamazken, PAI-1 gen polimorfizminin FMF hastalığında daha etkin olduğu gözlenmiştir. PAI-1 gen polimorfizmi testlerinin gelecekte, FMF hastalarını takip etmede faydalı olabileceği belirtilmiştir (Demirel ve ark., 2007; Dünder ve ark., 2013).

2.1.8. Klinik Bulgular

FMF hastalarının neredeyse tamamı, ilk 20 sene içerisinde ilk atak dönemlerini geçirir. Bunlardan %60 gibi büyük bir çoğunluğunda da ilk 10 yıl içerisinde belirtiler gözlenmektedir (Majeed ve ark., 1989; Arısoy ve ark., 1991; Gedalia ve ark., 1992). Diğer bir deyişle hastalık çocukluk dönemlerinde daha sık karşımıza çıkmaktadır. Ataklara neden olan bulguların sadece FMF hastalığına özgü olmamasından dolayı teşhis koymada gecikmeler yaşanabilir. Klinik bulgular çevresel ve genetik etkenlere göre farklılık göstermektedir.

Hastalık tipik olarak tekrarlayan ateş ve peritonit, artrit, plörit gibi poliserözit atakları ile karakterizedir. Daha seyrek olarak perikardit, orşiepididimit, miyozit, menenjit gibi ataklar da görülebilir. Atakların sıklığı gün de, haftada ya da ayda bir görülebilmekte ve kişiye göre değişkenlik göstermekteyken, atak süresi ortalama 12-96

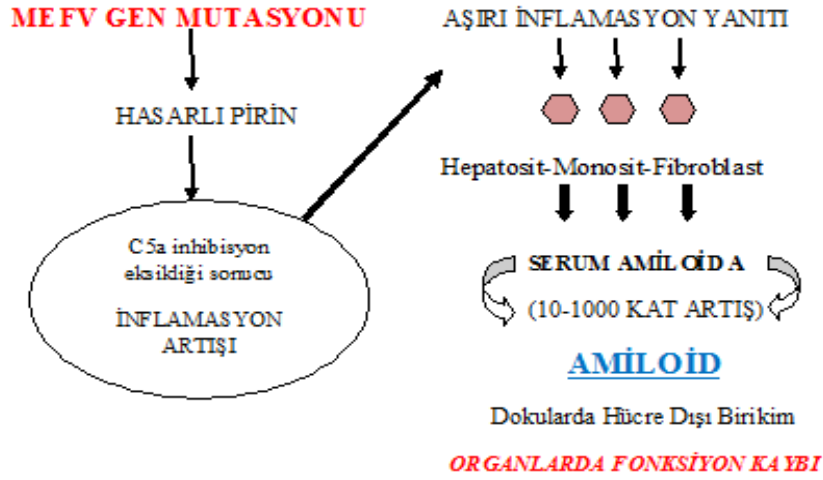
saat arasında değişmektedir. Yapılan alışmalar sonucu cinsiyete göre analiz edildiğinde erkeklerde kızlara göre daha sık görüldüğü belirtilmiştir (Sohar ve ark., 1967; Olgun ve ark., 2005; Ece ve ark., 2014).

Hastalığın, ani başlayan ve kısa süreli karın, göğüs veya eklemlerde ağrı ile birlikte yüksek ateş olması ve erken dönemde renal disfonksiyona neden olabilen böbrek amiloidozu olmak üzere iki temel klinik tablosu bulunmaktadır. Ayrıca, FMF hastalığının Henoch Schönlein Purpurası (HSP) ve Poliarteritis Nodosa (PAN) vs. damar iltihabı ile sonuçlanan farklı hastalıklarla ilişkili olduğu da öne sürülmektedir (Tekin ve ark., 2000; Cattan ve ark., 2005).

2.1.9. Amiloidozis

Amiloidoz; FMF hastalarında renal disfonksiyon oluşumuna neden olan önemli bir komplikasyon olup, farklı tipte görülebilirler (Tunca ve ark., 2005). Özellikle FMF hastalarında görülen tip olan sekonder amiloidozun prevalansı, etnik köken, ailesel ve çevresel faktörlerin etkisiyle belirgin farklılıklar göstermektedir (Pras ve ark., 1982). M694V mutasyonunu taşıyan FMF hastalarında kronik böbrek yetmezliği ile sonuçlanan amiloidoza gidiş oranı Dünya genelinde yaklaşık %55, Türk hastalarda ise %47 olarak bildirilmiştir (Akpolat ve ark., 2012).

Konu ile ilgili Hashim ve ark. (2004) FMF hastalarında SAA1 (tip 1 serum amiloid A protein) ve MICA (majör histokompatibilite (doku uyuru) kompleksi sınıf-1 Gen A) polimorfizmini incelemiştir. SAA1 α geni, renal amiloidosisin gelişiminde etkili rol oynamaktadır ve MICA'nın yokluğu, amiloidosis gelişimine katkıda bulunmaktadır. Sonuçta bu parametrelerin amiloidosise etkisinin olduğu ve hastalığın oluşum nedeni olabileceği bildirilmiştir (şekil 2.5).



Şekil 2.5. Amiloidosis oluşum mekanizması

2.1.10. Tanı ve Tedavi

FMF ile ilgili moleküler çalışmalar, tanı koymada belirteç bulma adına hız kazansa da hastalığın tanı koymak için fiziki muayene bulgusu ve özgün bir laboratuvar testi halen bulunmamaktadır. Hastalara günümüzde de güncelliğini koruyan Tel-Hashomer kriterleri ile birlikte moleküler tarama testleri kullanılarak tanı konmaktadır (Livneh ve ark., 1994; Srinivasula ve ark., 2001) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1.Tanı Koymada kullanılan Tel-Hashomer Kriterleri (Srinivasula ve ark., 2001).

Majör Kriterler	Minör Kriterler
Poliserözit ile giden tekrarlayan ateş atakları	Yineleyen ateşli ataklar
Başka bir nedene bağlanamayan AA tipi amiloidoz	Erizipel benzeri döküntü
Sürekli kolşisin tedavisine iyi yanıt	Birinci derecede akrabada AAA varlığı

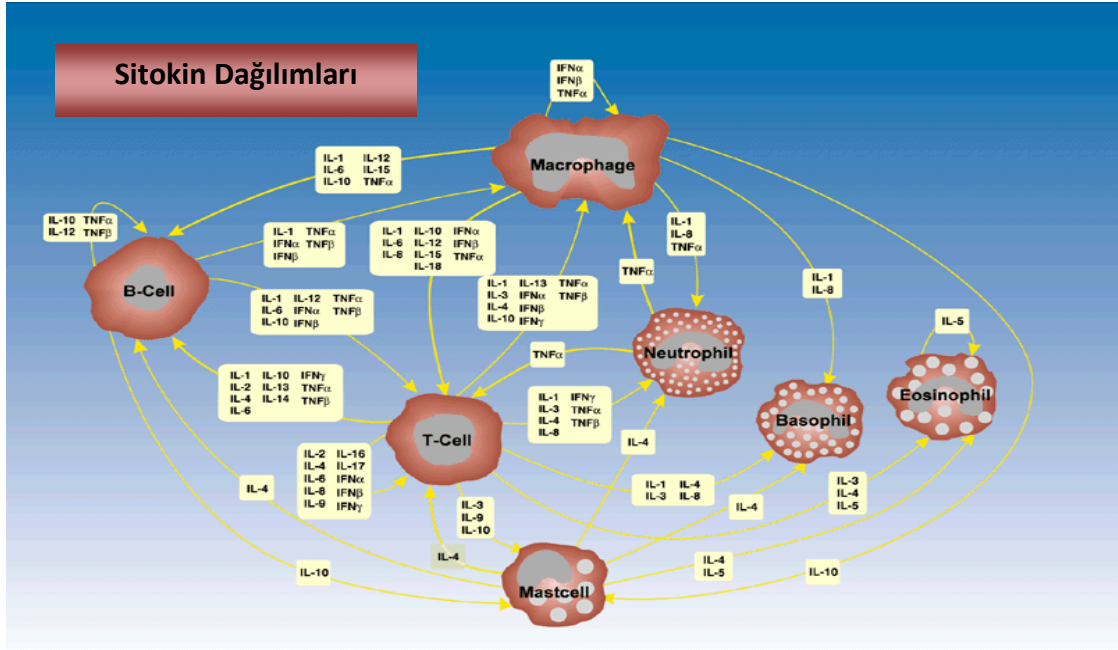
Kesin tanı konabilmesi için hastada, bir ya da iki majör, iki minör kriter; olasılık üzerinde durulması için de bir majör ve bir minör kriterin görülmesi gereklidir.

Semptomatik bir hastalık olan FMF hastalığının tedavisinde 1972 yılından beri çiğdem bitkisinden elde edilen kolşisin kullanılmaktadır (Rigante ve ark., 2006; Özen ve ark., 2014). Kolşisin, lizozomal degranülasyonu önlerken aynı zamanda Serum amiloid A düzeyini baskılar (Düzova ve ark., 2003). Ayrıca kolşisin uygulanması FMF'e bağlı akut fibril ataklarını düzeltmeyle kalmaz, bunun yanı sıra, AA amiloidosisine bağlı böbrek disfonksiyonlarının da düzelmesini sağlamaktadır (Nakamura ve ark., 2014). Kolşisin tedavisi ile FMF'li hastalarda hem nöbet şiddeti, hem de nöbet sıklığı belirgin olarak azalmaktadır. Ancak ilacın tüm yaşam boyunca kullanılması zorunludur. Tedaviye ara verildiğinde yeniden ataklar gözlenmektedir. Gut ve Behçet hastalıklarının tedavisinde de bu ilacı kullanmak mümkündür.

2.2. Sitokinler

Sitokinler immün fonksiyonları düzenleyen ve diğer hücrelerle iletişim halinde olmaya yarayan bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı ve suda çözünebilen proteinlerdir. Polipeptid ya da glikoprotein formunda bulunabilen bu proteinler bir enflamasyon ya da antijen ile uyarıldıklarında sentezlenmektedirler. Depolanabilme özellikleri yoktur ve gen transkripsiyonu sonucu iz miktarda sentezlendiklerinde dahi hedef hücreyi etkileyebilirler. Bu moleküller; lenfositlerin büyüme ve farklılaşmasında, antijenlerin yok edilmesinde ve hematopoetik hücrelerin gelişiminde rol oynarlar (Bidwell ve ark., 1999; Borish ve ark., 2003).

Sitokinler cevap oluşturmada etkileşim içerisinde hareket eder. Bu etkileşim hedef genin ekspresyonu veya aktivasyonu ile gerçekleşir. Türevlendikleri hücrelere göre sitokinler temelde 3 grupta incelenebilir: Mononükleer fagositlerden sentezlenenler, monokinler; lenfositlerden sentezlenenler, lenfokinler; lökositlerden sentezlenenler ise interlökin olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca interferonlar (IFN) ve tümör nekroz faktör (TNF) genleri de yine sitokin grubu içerisinde (Keen, 2002) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Sitokinlerin türevlendikleri hücreler ve birbirleri ile olan ilişkileri (Sinclair, 2000).

İnterlökin ailesi lökositler tarafından salınan ve diğer lökositlere etki ettiği bilinen sitokin grubudur. 40'tan fazla üyesi olan ve oldukça geniş bir aile olan interlökinler üzerine yapılan çalışmalar, monosit IL (IL-1 olarak da bilinir) ve lenfosit IL (IL-2 olarak da bilinir)'nin keşfinden sonra daha da hız kazanmıştır (Dinarello ve ark., 2010; Akdiş ve ark., 2011) (Tablo2.2).

İmmün sistemde proenflamatuar ve antienflamatuar olarak görev yapabilen sitokinler, ya hücrede meydana gelen enflamasyon sonucu dokuda oluşacak hasarın sonlandırmasına etki eder (antienflamatuar etki), ya da enflamatuar cevabın oluşması için gerekli hücreleri stimüle eder (proenflamatuar etki). Proenflamatuar sitokinler; IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve Prostaglandin E2 olarak bilinirken, bunlara antagonist etki gösteren antienflamatuar sitokinler ise; IL-4, IL-5, IL-10, IL-1, IL-6, IL-13 ve TGF- β 'dir (Akdiş ve ark., 2011; Agnihotri ve ark., 2012).

Sitokinlerden IL-10 ve TNF- α enflamatuar reaksiyonda karşı iki uçta rol alır (Ross ve ark., 1999; Akdiş ve ark., 2011). Otoregülatuar bir halkada önce TNF- α 'nın IL-10 üretimini arttırdığı, dönüşte TNF- α sentezini azalttığı düşünülmektedir (Abbas ve ark., 2005).

Tablo 2.2. İnterlökin ailesi ve buldukları kromozom bölgeleri (Anonim, 2014c)

Onaylanmış Sembol	Onaylanmış Adı	Önceki Sembolü	Sinonimleri	Kromozom
IL1A	interlökin 1, alfa	IL1	IL1F1, IL-1A, IL1-ALPHA	2q14
IL1B	interlökin 1, beta		IL1F2, IL-1B, IL1-BETA	2q14
IL1F10	interlökin 1 family, member 10 (theta)		FKSG75, IL-1HY2, IL-1F10, IL1-theta, MGC11983, MGC119832, MGC119833	2q13
IL2	interlökin 2		IL-2, TCGF	4q26-q27
IL3	interlökin 3 (colony-stimulatingfactor, multiple)		IL-3, MULTI-CSF, MCGF, MGC79398, MGC79399	5q23-q31
IL4	interlökin 4		BSF1, IL-4, BCGF1, BCGF-1, MGC79402	5q23-q31
IL5	interlökin 5 (colony-stimulatingfactor, eosinophil)		IL-5, EDF, TRF	5q23-q31
IL6	interlökin 6 (interferon, beta 2)	IFNB2	IL-6, BSF2, HGF, HSF	7p21-p15
IL7	interlökin 7		IL-7	8q12-q13
IL8	interlökin 8		SCYB8, LUCT, LECT, MDNCF, TSG-1, CXCL8, IL-8, NAP-1, 3-10C, MONAP, AMCF-I, LYNAF, NAF, b-ENAP, GCP-1, K60, GCP1, NAF1	4q13-q21
IL9	interlökin 9		IL-9, HP40, P40	5q31-q35
IL10	interlökin 10		CSIF, TGIF, IL10A, IL-10	1q31-q32
IL11	interlökin 11		IL-11, AGIF	19q13.3-q13.4
IL12A	interlökin 12A (natural killer cellstimulatoryfactor 1, cytotoxiclymphocytematurationfactor 1, p35)	NKSF1	CLMF, IL-12A, p35, NFSK	3q25.33
IL12B	interlökin 12B (natural killer cellstimulatoryfactor 2, cytotoxiclymphocytematurationfactor 2, p40)	NKSF2	CLMF, IL-12B, NKSF, CLMF2	5q31.1-q33.1
IL13	interlökin 13		P600, IL-13, ALRH, BHR1, MGC116786, MGC116788, MGC116789	5q31
IL15	interlökin 15		IL-15, MGC9721	4q31
IL16	interlökin 16		LCF, IL-16, prIL-16, HsT19289, FLJ42735, FLJ16806	15q26.3
IL17A	interlökin 17A	CTLA8, IL17	IL-17A, IL-17	6p12
IL17B	interlökin 17B		IL-17B, ZCYTO7, IL-20, MGC138900, MGC138901, NIRF	5q33.1

IL17C	interlökin 17C		IL-17C, CX2, IL-21, MGC126884, MGC138401	16q24
IL17D	interlökin 17D		IL-22, IL-27, IL-17D, IL27, FLJ30846	13q11
IL17F	interlökin 17F		IL-17F, ML-1, ML1	6p12
IL18	interlökin 18 (interferon-gamma-inducingfactor)		IGIF, IL1F4, IL-1g, IL-18	11q22.2-q22.3
IL18BP	interlökin 18 binding protein		IL18BP _a	11q13
IL19	interlökin 19		IL-19, MDA1, ZMDA1, IL-10C, NG.1	1q32.2
IL20	interlökin 20		ZCYTO10, IL10D, IL-20	1q32
IL21	interlökin 21		Za11, IL-21	4q26-q27
IL22	interlökin 22		ILTIF, IL-21, zcyto18, IL-TIF, IL-D110, TIFa, TIFIL-23, IL-22, MGC79382, MGC79384	12q15
IL23A	interlökin 23, alfa altunite p19		SGRF, IL23P19, IL-23, IL-23A, P19	12q13.13
IL24	interlökin 24	ST16	mda-7, IL10B, Mob-5, C49A, FISP, IL-24	1q32
IL25	interlökin 25	IL17E	IL-25, IL-17E	14q11.2
IL26	interlökin 26		AK155, IL-26	12q15
IL27	interlökin 27	IL30	IL-27, p28, IL27p28, IL-27A, IL27A, MGC71873	16p11
IL31	interlökin 31		IL-31	12q24.31
IL32	interlökin 32		NK4, TAIF, TAIFb, TAIFd	16p13.3
IL33	interlökin 33	C9orf26	DVS27, DKFZp586H0523, NF-HEV, IL1F11	9p24.1
IL34	interlökin 34	C16orf77	MGC34647, IL-34	16q22.1
IL36A	interlökin 36, alfa	IL1F6	FIL1, FIL1E, IL-1F6, IL1(EPSILON), MGC129553, MGC129552	2q12-q14.1
IL36B	interlökin 36, beta	IL1F8	FIL1, IL-1H2, IL-1F8, FIL1-(ETA), IL1-ETA, IL1H2, MGC126880, MGC126882	2q14
IL36G	interlökin 36, gamma	IL1F9	IL-1H1, IL-1RP2, IL-1F9, IL1H1, IL1E	2q12-q21
IL37	interlökin 37	IL1F7	FIL1, FIL1Z, FIL1(ZETA), IL-1H4, IL-1RP1, IL-1F7	2q12-q14.1

2.3. Genetik Polimorfizm

Toplumda %1'den daha sık bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, bir grupta yada bireyler arasında DNA diziliminde görülen değişikliklerdir. Gen üzerinde gerçekleşen bu değişimler, gelişim sürecinde tüm türlerin farklılaşmasına ve bir türün üyeleri arasında farklılık oluşmasına yol açabilir. Genomda çoğunluğu tek nükleotid düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotid tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler bulunur. En sık görüleni ise Tek Nokta Polimorfizmi olarak isimlendirilen SNP (Single Nucleotide Polymorphism)'lerdir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Bireyler arasında görülebilen tek nükleotid polimorfizmleri (Jobling, 2009).

İnsan popülasyonları arasındaki genetik çeşitlilik nedeniyle, aynı hastalığa farklı popülasyonlar, farklı yatkınlık gösterebilir. Hastalığa karşı duyarlılık, direnç ve hastalık prognozu bu genetik farklılıklardan etkilenebilmektedir. SNP'lerin önemli rol oynadığı genetik farklılıkların belirlenebilmesi için yapılan taramalar ile hastalığa yatkınlık oluşturabilecek varyant alleller tespit edilebilir, spesifik SNP profilleri belirlenebilir ya da bireylerin hastalığa yatkınlığının olup olmaması hakkında bilgi edinilebilir.

Genlerin kodlama bölgesi içinde meydana gelen non-konservatif bir mutasyon, gen kaybı veya eksprese edilen proteinde protein yapısının değişmesi sonucu fonksiyon

değişimine neden olabilir. Sitokin ve sitokin reseptör genleri genellikle çok iyi korunmuş ekzon dizileri içerisinde bulunur (Bidwell ve ark., 1998).

Transkripsiyonda önemli bir etkiye sahip olabilen genlerin intronunu veya 5'-3' düzenleyici bölgeleri içeren polimorfizmler, düzenleyici bölgelerden daha uzaktaki gen, promotor ya da enhansırların yapısı içindeki transkripsiyon faktörüne bağlı bölgenin yapısını değiştirebilir (Bidwell ve ark., 1999).

Hastalıklardaki sitokin gen polimorfizmlerinin hastalığa olan katkısını analiz eden çalışmalar son yıllarda artsa da, FMF hastalığı ile ilgili oldukça az çalışma bulunmaktadır (Akbaş, 2009) (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. FMF hastalığında bugüne kadar araştırılmış Sitokin Polimorfizmleri.

FMF Hastalığında Araştırılmış Sitokin Polimorfizmleri	Kromozom	Hastalık İle İlişkisi
IL-1b (IL-1Beta-511 (C/T ve IL-1Beta +3953 (C/T))	2q14	Yok (Balci-Peynircioğlu ve ark., 2008)
IL-1b reseptörü (IL-1Ra VNTR)	2q12	Yok (Balci-Peynircioğlu ve ark., 2008)
IL-4 70bp	5q23-q31	Var (Yigit ve ark., 2014)
IL-6 -174 G/C	7p21-p15	Yok (Karahan ve ark., 2005)
TNF-a(308 G/A)(1031 T/C)(238 G/A)	6p21.3	Eğilimli (Dündar , 2013;Bonyadi, 2012; Kobak, 2007)

2.3.1. Real-Time PCR (Gerçek Zamanlı PCR)

PCR yöntemi hedef DNA ya da RNA molekülünün, primer denilen spesifik komplementer oligonükleotidler ile sıcaklığa dayanıklı polimeraz enzimi kullanarak *in vitro* olarak çoğaltılmasına dayalı bir tekniktir. PCR'in en avantajlı yönlerinden biri, hedef genetik materyal içerisinde, özgün bir bölgenin rahatlıkla çoğaltılabilmesidir (Saiki ve ark., 1988).

Günümüzde çoğaltılmak istenen dizinin yapısı, fonksiyonu, işlevinin analizini kolaylaştıran birçok tipte PCR tekniği uygulanmaktadır (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Günümüzde uygulanan PCR teknikleri.

Touchdown PCR	VNTR-PCR, rep-PCR, IS-PCR
Hot start PCR	RT-PCR
Multipleks PCR	AFLP-PCR
Nested PCR	RFLP-PCR
Konsensus PCR	Strand displacement amplification (SDA)
Ters yönlü PCR	Transcription-related amplification (TMA)
AP-PCR ve RAPD-PCR	Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA)
Kantitatif Real-Time-PCR	Allel-spesifik PCR

PCR teknikleri içerisindeki en popüler tekniklerden biri olan Real-Time PCR, DNA ya da mRNA molekülünün çoğaltılmasını sağlayan ve açığa çıkan ürünün miktarını tek seferde analiz eden bir yöntemdir (Gibson ve ark., 1996). Floresan işaretli prob ve boyalar eşliğinde DNA'nın çoğalmasının eş zamanlı olarak gözlenebilmesinden dolayı bu ismi almıştır. Klasik PCR tekniklerine oranla çok daha az hata yapma payı olan ve iş yükünü oldukça azaltan bu teknik, yalnızca DNA veya mRNA miktar tayininde değil, tek nokta mutasyonu analizi, patojen tayini, DNA hasar tespiti, metilasyon belirlenmesi ve kromozom bozuklukları tespitinde de kullanılan multifonksiyonel bir tekniktir (Kubista ve ark., 2006).

Real-Time PCR yöntemi kendi içerisinde; Özgül olmayan Belirleme Sistemi (SYBR Green I), Özgül Belirleme Sistemi (Taqman Prob ve Moleküler boncuk), Hibridizasyon Prob yöntemi olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

1. SYBR Green I Yöntemi:

Çift zincirli DNA'nın özgül olmayan amplifikasyonunda kullanılan yöntemdir. Adını reaksiyonda kullanılan boyadan alan bu yöntemde, floresan boya sadece çift zincirli DNA'ya bağlanır ve DNA miktarının artışıyla doğru orantılı olarak cihazın gösterdiği floresan boyada da artış gözlenir. İyi dizayn edilmiş primerler sayesinde istenilen gen bölgesi kolayca çoğaltılabilir. Ancak, istenmeyen ürün çoğalması sırasında meydana gelen ışımaldan dolayı hata payı taşır (Kubista ve ark., 2006).

2. Taqman Prob Yöntemi:

Bu yöntemin kullanılabilmesi için, önceden belirlenmiş bir diziden bahsedebilmek gerekir. Yöntemde, çoğaltılmak istenen DNA'ya komplementer olan, tek zincirli ve floresan işaretli bir prob kullanılır. Bu probun 5' ucunda fluorophore (6-karboksifloresin=6-FAM), 3' ucunda quencher (6-karboksitetrametil-rodamin=TAMRA) bulunur. 3' ucundaki boyanın 5' ucundaki boyayı baskılamasından dolayı amplifikasyon olmadığında ışımaya çok düşük düzeyde gerçekleşir. Ancak, çoğalma gerçekleştiği esnada, probun bulunduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA Polimeraz enzimi 5'-3' nükleaz aktivitesi göstererek FAM'ın probtan kopmasına neden olur ve serbest halde bulunan FAM sinyali oluşturur (Cacherill ve ark., 2001).

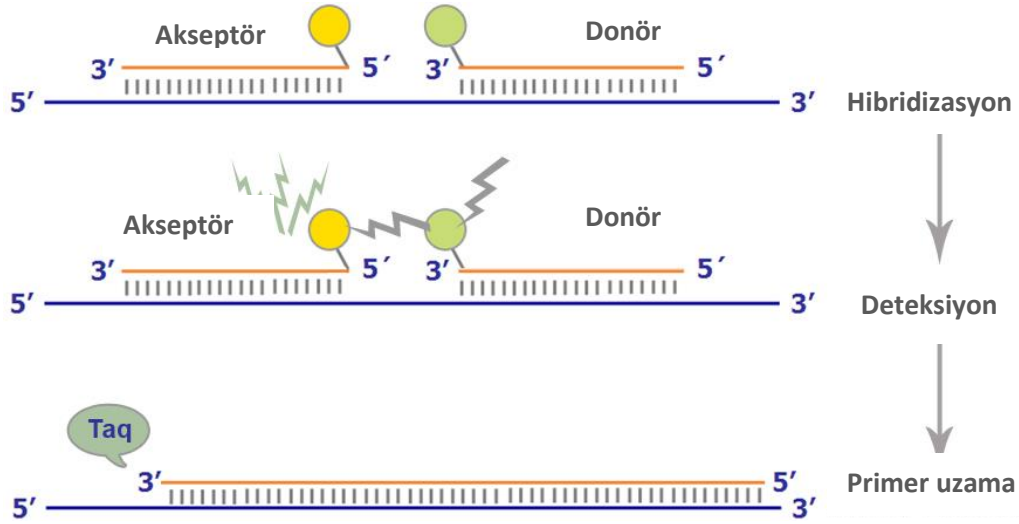
3. Moleküler Boncuk Yöntemi:

Diğer iki yöntemden daha farklı olan bu yöntemde, düz olan uçlarında iki adet florokrom boya içeren, saç tokası şeklindeki bir yapının yuvarlak olan kısmında, hedef DNA'ya komplementer tek zincirli DNA dizisi bulunur. Serbest halde bulunduğu ışıma yapmayan bu moleküler boncuk probu, DNA ile birleştiğinde molekülün konformatik yapısı değişerek düz forma geçer ve birbirini baskılayarak ışımayı engelleyen boyalar da birbirinden uzaklaştığından floresan ışımaya miktarında artış gerçekleşir (Tyagi ve ark., 1996).

4. Hibridizasyon Prob Yöntemi:

Hibridizasyon prob yönteminde donör ve akseptör adı verilen ve farklı floresan boylarla etiketlenmiş, özel olarak tasarlanmış, istenen diziyeye özgü oligonükleotid problemler kullanılır. Donörde bulunan floresan boya uygun dalga boyuyla eksite edilir ve enerjisi akseptörde bulunan floresan boyaya aktarılır. Akseptör, daha uzun dalga boyunda emisyon yapar. Denatürasyon basamağında hibridizasyon problemleri solüsyon içinde ayrı ayrı dururken, annealing basamağında problemler hedef DNA dizisine yan yana bağlanır ve birinci boyanın aktarılan emisyon enerjisi ikinci boyayı uyarır. Uyarılan ikinci boya da emisyon enerjisi yayarak ışımaya yapar. Floresan işaretli iki probun arasındaki bu etkileşime FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer)

denilmektedir. Uzama basamağında her iki prob DNA dizisinden ayrılmaya başlar ve polimerizasyon bitiminde proplar serbest hale dönerler (Şekil 2.8).

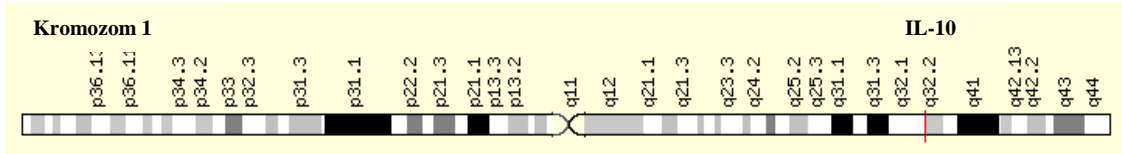


Şekil 2.8. FRET problemlerinin çalışma prensibi (Anonim, 2014d)

Yayılan floresan miktarıyla PCR sırasında üretilen hedef DNA miktarı doğru orantılıdır. DNA miktarındaki artış bu sayede gözlemlenmektedir. PCR işleminden sonra uygulanan erime eğrisi (melting curve) analizi polimorfizm tespitini yapar. Bunun için, PCR’da DNA amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, sıcaklık çok yavaş bir şekilde yükseltilerek her bir örnek için erime eğrisi oluşturulmuştur. Sıcaklık yükseltilmesi sırasında normal dizi ile polimorfizm içeren dizinin ayrımı gerçekleştirilmektedir. Polimorfizm içeren dizi ile floresan işaretli prob arasında oluşan dubleks yanlış bir eşleşme (“mismatch”) içerdiğinden, normal dizi ile prob arasında oluşan dubleksi oranla daha az stabildir. Bu durum, polimorfizm içeren dubleksin daha düşük bir erime noktasına (“melting point”) sahip olmasına ve dolayısıyla sıcaklık yükseltilmesi sırasında daha düşük bir sıcaklıkta ayrışmasına yol açmaktadır. Matematiksel bir dönüşüm kullanılarak erime eğrilerinden floresan değerinin negatif türevinin sıcaklığa göre değişimini veren profiller elde edilmekte ve değişik allellere ait farklı erime sıcaklıkları gösteren tepeler izlenmektedir (Chaplin ve ark., 1999).

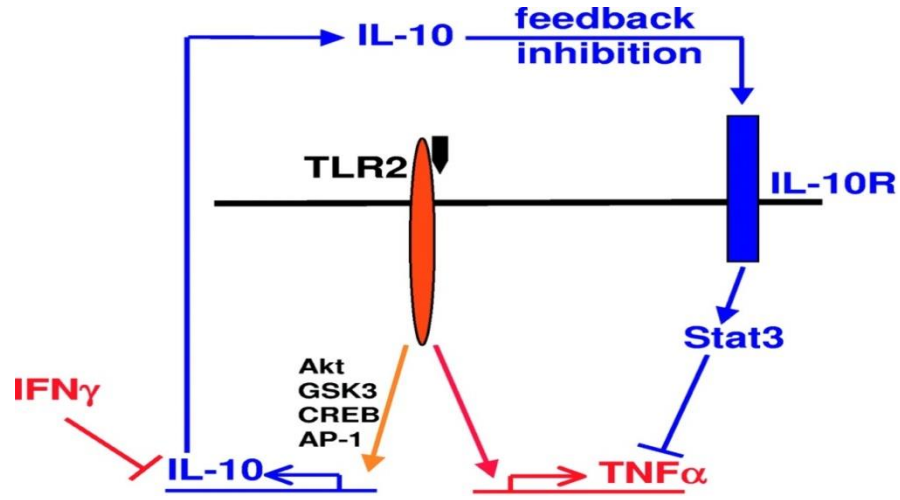
2.4. İnterlökin-10 Ve Polimorfizm

İnterlökin (IL)-10, kromozom 1(q31-q32) üzerine yerleşmiş, 5.1 kb uzunluğunda ve 178 amino asitten oluşan, düzenleyici T lenfositleri, aktive edilmiş makrofajlar ve T yardımcı (Th) 2 hücreleri, dâhil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından salgılanan önemli bir antienflamatuar sitokindir (Huang ve ark., 2005) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Kromozom 1 üzerinde yer alan interlökin-10 geni (Anonim, 2014e)

Bu gen tarafından kodlanan protein esas olarak monositler ile, daha düşük ölçüde lenfositler tarafından üretilen bir sitokindir. IL-10 üretiminin seviyesi, immün sistem düzenlenmesinin yanı sıra, hücrel ve humoral cevap oluşumu arasındaki dengeyi sağlamaktadır (Gao ve ark., 2009). IL-10'un immün ve enflamatuar yanıtta supresör etkisi bulunurken, sitotoksik aktivite ve sitokin sentezi gibi makrofaj fonksiyonlarının inhibisyonu etkileri de vardır. Th1 sitokinlerini ve MHC klas II'sini ekspresyonunu ve makrofaj üzerindeki molekülleri downregüle eder. Ayrıca B hücrelerinin poliferasyonunu ve antibody üretimini de artırır. NFκB aktivasyonunu bloke ederek JAK-STAT sinyal yolağının regülasyonunu da sağlamaktadır. IFN- γ baskılanmasıyla indüklenmiş TLR-2 feedback inhibisyonu IL-10 üretimini ve STAT3 aktivasyonu düşürür. Böylece indüklenmiş TLR-2 feedback inhibisyon döngüsü kesintiye uğrar. IL-10 ekspresyonunun baskılanması sonucunda TNF- α gibi enflamatuar sitokinlerin üretimi artar (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. IL-10'un enflamatuar yanıt oluşturmada TNF- α ile ilişkisi (Hu ve ark., 2007).

IL-10 geni polimorfik bir gen olup, özellikle promotor bölgesinde bulunan polimorfizmler IL-10 seviyesinde farklılıklara neden olmaktadır. IL-10 gen promotor bölgesinde -1082,-819 ve -592. pozisyonlarının da içinde bulunduğu üç biallelik polimorfizm bulunmaktadır. Bunlar: Farklı seviyelerde gen ekspresyonuyla ilişkili olan, GCC, ACC ve ATA'dır (Roh ve ark., 2002; Wang ve ark., 2011). Dördüncü ve nadir olarak görülen GTA haplotipi ilk defa, Mok ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada görülmüş ve bu haplotipin yalnızca Çinlilerde görüldüğü ileri sürülmüştür (Gibson ve ark., 2006). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarla farklı popülasyonlarda da görülebileceği ispatlanmıştır.

IL-10 polimorfizmi üzerinde yapılan araştırmalar özellikle Çin, İran, Türkiye ve Pakistan ülkelerinde yoğunluk kazanmış durumdadır. Farklı hastalıklar üzerinde yapılan IL-10 polimorfizmi çalışmalarından bazılarının, kontrol gruplarına ait genotip ve allel frekansları tablo olarak gösterilmiştir (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Farklı ülkelerdeki farklı hastalıklarda IL-10 -1082G/A,-592C/A ve -819 C/T polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansı dağılımları

REFERANSLAR	ÜLKE	N	IL-1082 G/A						IL-819/592			
			Genotip			Allel			Genotip		Allel	
			G/G	G/A	A/A	G	A	T/T(A/A)	C/T(C/A)	C/C	C	T(A)
Afzal ve ark., 2012	Pakistan	99	11,1	82,9	6,1	49	51	15,15	81,82	3,03	42,9	57,1
Boiardi ve ark., 2006	İtalya	200	13,5	45,5	41,5	36	64	5,5	32	62,5	78,5	21,5
Azarpira ve ark., 2010	İran	100	5,5	78,5	16	45	55	13/11,5	23/26,5	64/62	74,5/76	25,5/24,5
Ateş ve ark., 2011	Türkiye	202	12	40	48	32	68	11	50	39	64	36
Zammiti ve ark., 2006	Bahreyn	200	19,5	53,5	27	47,3	53,7	9,5/12,5	28,5/20,5	63/67	76	24
Abdolrahim-Zadeh ve ark., 2005	İran	320	15,2	39	45,8	34,7	65,3	9,8/9,9	38,2/36,5	52/53,6	71,1	28,9
Tang ve ark., 2014	Çin	660	10,3	47	42,7	33,8	66,2	13,9/12	36,8/33,9	49,3/54,1	67,7/71,1	32,3/28,9
Mohebbatikaljahi ve ark., 2009	Türkiye	116	18,1	40,5	41,4	38,4	61,6	12,1/10,3	37,9/41,4	50/48,3	69	31
Pigossi ve ark., 2012	Brezilya	277	13,4	50,3	36,3	38,6	61,4	10,6/10,3	42,9/42,3	46,5/47,4	32,2/31,1	67,7/68,9
Ateş ve ark., 2010	Türkiye	102	8	50	44	32	68	11	44	47	32	68
Sofian ve ark., 2013	İran	31	9,7	48,4	41,9	33,9	66,1	12,9	35,5	51,6	30,7	69,3
Zhou ve ark., 2014	Çin	119	1	9	89,9	5,5	94,5	53,7	32,7	13,4	29,9	70,1

Bu haplotipler IL-10 ekspresyonunun düşük (ATA), orta (ACC) ve yüksek (GCC) olması ile ilişkilidir. Bununla birlikte IL-10 geninin promotor polimorfik bölgeleri ve frekansları farklı popülasyonlarda farklı dağılımlar gösterebilmektedir. Diğer bir deyişle -1082 (G/A)' da G / G genotip yüksek IL-10 üretimi ile ilişkilidir, ancak G/A, orta ve A/A, düşük üretimi ile ilişkilidir. -819 (C/T) ve -592 (C/A) polimorfizmleri ise IL-10 üretimi üzerinde bağımsız bir etkiye sahip olduğu öne sürülse de (Summers ve ark., 2000), pozisyon -592'deki SNP'nin A alleli IL-10 salınımının daha düşük miktarda olması ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (Hutchinson ve ark.,1999).

Psöriasis hastaları ile yapılan bir araştırmada, Kafkasyalılarda nadir görülen GTA haplotipi tespit edilmiş ve ACC haplotipinin yüksek IL-10 salınımında, ATA haplotipinin de düşük IL-10 salınımında etkin rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Ailedeki sedef hastalığı öyküsünün ve yaş faktörünün, IL-10 haplotiplerinin dağılımına etkisi olduğuna dair bir veri elde edilememiştir. Kontrol ve hasta grubu arasında haplotip frekansının dağılımı açısından bir farklılık görülmemiştir (Kingo ve ark., 2003).

2006 yılında dev hücreli arterit hastalığıyla yapılan çalışmada, hastalığa yatkınlık oluşturmada IL-10-592 C/A polimorfizmi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. İtalya'da yapılan bu çalışmada, GTA haplotipinin GCC, ATA, ACC haplotiplerine oranla daha düşük oranda olduğu tespit edilmiştir (Boiardi ve ark., 2006).

2009 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise, şizofreni hastalarının IL-10 polimorfizmi ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucu, hasta grubunda, sağlıklı gruba göre, GTA haplotipinin belirgin bir artışı olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak, Türk popülasyonunda IL-10 polimorfizminin şizofreniye yatkınlık oluşturabileceği iddia edilmiştir (Özbey ve ark., 2009).

IL-10 polimorfizminin Hepatit C'ye yatkınlık oluşturup oluşturmadığını aydınlatan bir çalışmada ise, allel seviyesinde, hastalık ile IL-10 polimorfizmi arasında ilişki tespit edilse de genotip dağılımında aynı ilişki bulunamamıştır. Sonuç olarak farklı IL-10 polimorfizmlerinin proenflamatuar ve antiinflamatuvar sitokinler arasında, dengesizliğe öncüllük edebileceği öne sürülmüştür (Afzal ve ark., 2011b).

Tüberküloz hastalarının IL-10 geni promotor polimorfizmi ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada GCC, ATA, ACC haplotiplerinin yanı sıra GTA haplotipi de

tespit edilmiştir ve IL-10 geni üzerindeki polimorfizmlerin tüberküloz hastalığının gelişmesine etkisi olduğu öne sürülmüştür (Afzal ve ark., 2011a).

2012 yılında Pakistan popülasyonunun sıtma hastalığına duyarlılığı ile IL-10 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi açıklamayı hedefleyerek yapılan çalışmada ise, herhangi bir ilişki bulunmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada da GTA haplotipi tespit edilmiştir ancak, diğer çalışmalardakilere oranla daha sık bu haplotipe rastlanmıştır (Afzal ve ark., 2012).

Birçok çalışmada -819 ve -592 bölgesinde linkaj olduğu belirtilmiştir. -1082 A allelinin varlığında konkanavalin A ile yapılan lenfositlerin uyarılması, -1082 A allelinin olmadığı hücrelere göre daha düşük IL-10 üretimine yol açtığı bildirilmiştir (Turner ve ark., 1997; Hutchinson ve ark., 1999). İmmün-enflamatuar hastalıklara duyarlılığın belirlenmesi ile bu SNP'nin fonksiyonel ilişkisinin bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, IL-10-592 ile -819 dimorfizmlerinin çok güçlü bir linkaj dengesizliği gösterdiği bilinmektedir (Crawley ve ark., 1999; Girndt v ark., 2002).

Yapılan çalışmalar sonucu IL-10 ile birçok hastalık arasında ilişki bulunurken, Behçet Hastalığının IL-10 ve TNF- α polimorfizmleri ile ilişkisi incelendiğinde IL10-1082 (G/A), -819 (C/T),-592 (C/A), TNF- α -308 (G/A) polimorfizmleri ile herhangi bir ilişki bulunamadığı görülmüştür. Behçet hastalığının oluşumunda bu genotiplerin bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir (Ateş ve ark., 2010).

Öte yandan Primer Sjögren sendromu ile interlökin-10 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, TNF- α -308 A, IL-10-1082 G allelinin bu hastalıkla ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (Qin ve ark., 2013).

Zhou ve ark.(2014) nın vokal kordlökoplaki görülen hastalarda yapmış olduğu çalışmada da hastalığın, IL-10 (-1082/-819/-592) promotor polimorfizmi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hassas bağırsak sendromu ve derin ven trombozu ile IL-10 (-1082/-819/-592) promotor polimorfizmi ilişkisinin analiz edildiği çalışmalarda ise IL-10-1082 ile ilişki bulunmuşken, -819 ve -592 polimorfizmleri ile bu hastalıklar arasında bir ilişki bulunamadığı belirtilmiştir (Qin ve ark., 2013, Tang ve ark., 2014).

Diğer yandan Crohn hastalığı ve ülseratif koliti içine alan enflamatuar bağırsak hastalıklarında yapılan çalışmada, bu hastalıklar ile, IL-10-592 (C/A) polimorfizmi ilişkili bulunamazken, IL-10-1082 (G/A) ve -819 (C/T) polimorfizmlerinin kesin

ilişkisi olduğu ve enflamatuar bağırsak hastalıkları için bir risk oluşturduğu belirtilmiştir (Lv ve ark., 2014).

FMF hastalığı ile IL-10 sitokini arasındaki ilişkiyi aydınlatma adına yapılmış çok az çalışma vardır. 2003 yılında yapılan bir çalışmada IL-10 serum düzeyinin atak geçiren FMF hastalarıyla kontrol grubu arasında bir değişiklik göstermediği ve bu antienflamatuar sitokinin, diğer enflamatuar sitokinler kadar seviyesinde bir artış gözlenmediği bildirilmiştir (Baykal ve ark., 2003).

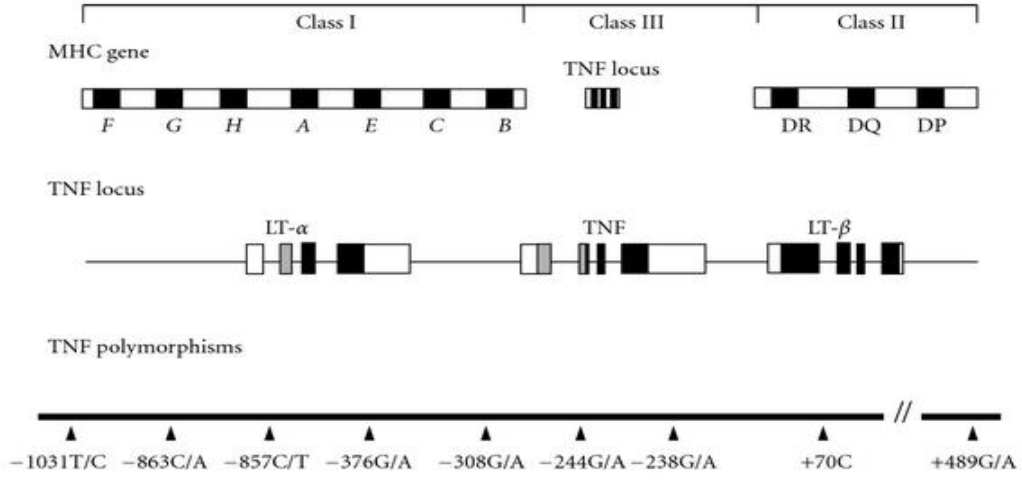
2006 yılında 24 FMF hastasıyla yapılan başka bir çalışmada ise plazma IL-10 seviyeleri incelenmiş ve sonuç olarak IL-10 seviyesinin hasta grubunda daha yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (Erken ve ark., 2006).

FMF'li Ermeni hastalar üzerinde sitokin profilinin çıkarılması üzerine yapılan bir araştırmada da aktif FMF hastalarında IL-6, IL-10, IL-17, TGF- β gibi sitokinler remiyon dönemindeki hasta grubu ve kontrol grubuna göre önemli derecede farklı bulunmuştur (Manukyan ve ark., 2008). Bununla birlikte FMF hastaları ile kontrol grubu arasında IL-10 serum seviyesi açısından anlamlı fark olmadığını belirten yayınlar da mevcuttur (Şimşek ve ark., 2007).

2.5. TNF- α

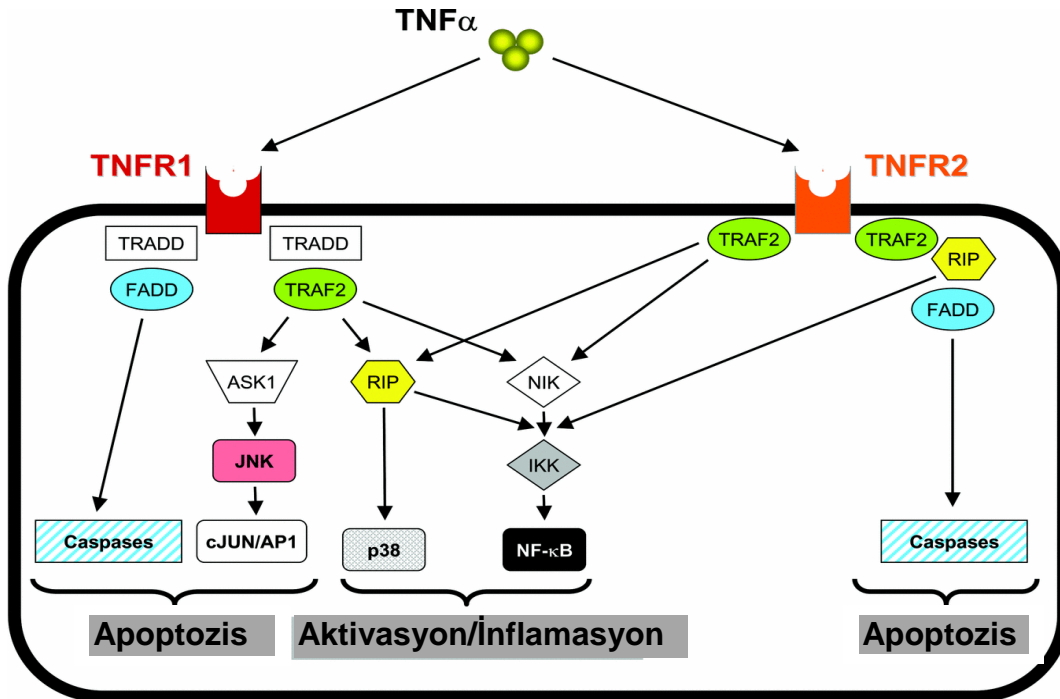
Kaşektin olarak da bilinen Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) 17-70 kDa ağırlığında bir proenflamatuar sitokin olup makrofajlar ve monositler başta olmak üzere endotel hücreler, fibroblast, adipositler, B hücreleri gibi spesifik hücreler tarafından sentezlenmektedir (Abbas ve ark., 1994; Male ve ark., 1996). Birçok hücreden sentezlendiği gibi, birçok hücreyi de etkileyen TNF- α geni, kromozom 6 (6p21.3) üzerinde majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf III bölgesinde bulunmaktadır.

Tümör nekroz faktörü (TNF) enfeksiyona karşı konak savunmasının bir parçası olarak üretilen bir sitokindir. Lenfotoksin “ α ” ve “ β ” genleri ile kuşatılan TNF- α geninin aynı zamanda, HLA sınıf I (HLA-B) ve sınıf II (HLA-DR) ile çok yakın bir linkaj kurduğu da bildirilmiştir (Nedwin ve ark., 1985) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Kromozom 6 üzerinde TNF geninin yerleşimi ve TNF geni üzerinde görülen SNP'ler (Verweij, 1999).

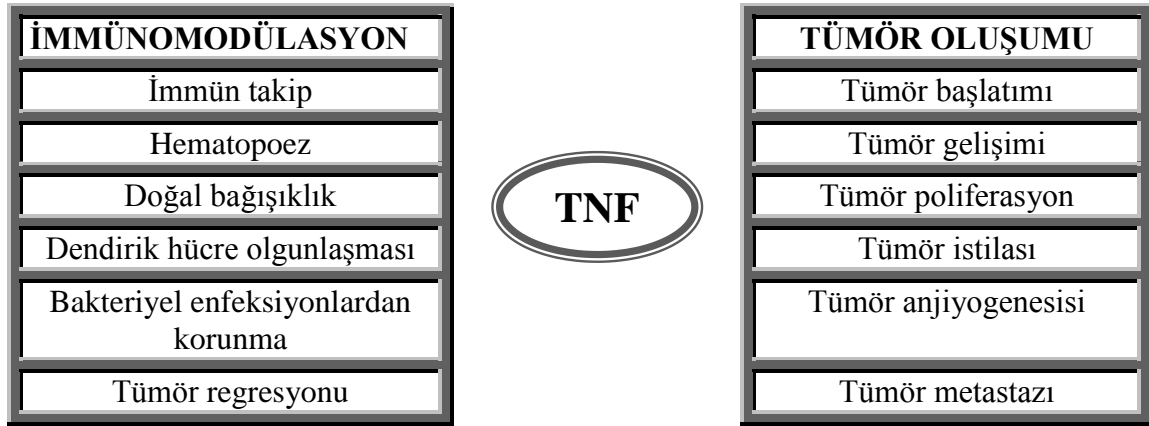
TNF- α , TNFR1 ve TNFR2 olmak üzere iki reseptör tarafından hücreye bağlanır. Bu bağlanmayla birlikte başlayan reaksiyonlar zinciri sonucunda hücre, apoptozis, enflamasyon veya aktivasyon sonuçlarını doğurur (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. TNF- α sinyal yolağı (Russo, 2005).

TNF, lokal enfeksiyon veya enflamasyon bölgelerinde immün yanıtı başlatmakta ve antimikrobiyal savunma sistemlerini de aktive etmektedir (Van Heel ve ark., 2002; Asghar ve ark., 2004). Sadece immünomodülasyon değil, bunun yanı sıra tümör gelişiminde de aktif olarak rol oynamaktadır (Tablo 2.6).

Tablo 2.6. Kanser oluşumu ve İmmünomodülasyonda TNF'nin rolü (Sethi ve ark., 2008).



Daha önce yapılan çalışmalar, TNF geninin 5' düzenleyici bölgesindeki polimorfizmlerin pek çok enfeksiyon ve enflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olduğunu göstermiştir. 2006 yılında yapılan bir çalışmada, enflamatuvar bir hastalık olan romatoid artrit ile TNF+488A ilişkili bulunmuşken, TNF+489 polimorfizminin romatoid artrit duyarlılığına herhangi bir katkıda bulunmadığı bildirilmiştir (Aguillo'n ve ark., 2006).

TNF- α polimorfizmi ile FMF hastalığı arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak adına, son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, IL-10'da olduğunun aksine daha fazladır. TNF- α promotor polimorfizminin FMF'e duyarlılığın belirlenmesinde bir belirteç olabileceğinin savunulduğu bir çalışmada, TNF- α /238 ve TNF- α /308 genotip dağılımları ve allel frekanslarının hasta ve kontrol grubunda benzer bulunduğu ve FMF akut ataklarının sıklığı ile bu genotipler arasında anlamlı bir ilişki bulunamadığı belirtilmiştir (Kobak ve ark., 2007).

FMF hastalarında amiloidoz gelişiminin araştırıldığı çalışmada ise, TNF- α -308 polimorfizminin AA tipi amiloidoz fenotipi ile belirgin bir ilişkisi olmadığı ve FMF hastalarında amiloidoz gelişimine etkisi bulunmadığı öne sürülmüştür (Yılmaz ve ark.

2003). Bunlara paralel olarak, 2013 ve 2007 yılında yapılmış olan çalışmalarda da TNF- α -308 genotipi ile FMF mutasyonları arasında bir ilişki bulunamamıştır (Demirel ve ark., 2007; Dündar ve ark., 2013).

2012 yılında yapılan bir çalışmada da FMF hastalarındaki TNF- α -308 GG'nin, amiloidoz ve artrit gelişimine yatkınlık oluşturduğunu ve TNF- α -308 A allel frekansının da amiloidozlu hastalarda oldukça düşük olduğunu, aralarında koruyucu bir role sahip olabileceğini belirtilmiştir (Bonyadi ve ark., 2012).

Bir başka enflamatuvar hastalık olan Sarkoidoz hastalığında, TNF- α -(-857,-1031), IL-10(-592,-819) ve IL-6-634 polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada, total olarak hasta ve kontrol grubunda SNP'lerde bir farklılık gözlenmemişken, IL-10-819 ve- 592 de göz tutulumu grubu içerisinde, prevalans değerleri bakımından bir farklılık tespit edilmiştir. Kardiak tutulumu grubunda ise, bu farklılık TNF-a-857 polimorfizminde, hasta ve kontrol grubu arasında gözlemlenmiştir. Sonuç olarak TNF-a-857 polimorfizminin kardiak sarkoidoz oluşumuna yatkınlık oluşturabileceği kanısına varılmışken; aynı kanı, göz tutulumu ile görülen sarkoidoz için IL-10-819 ve- 592 SNP'lerinde geçerlidir.(Kuroda ve ark., 2013).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ile TNF- α -857 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi açıklamayı hedefleyen başka bir çalışmada ise, Ülseratif Kolit ile TNF- α -857 polimorfizmi arasında genotip ve allel frekansları sonuçlarına göre bir ilişki kurulamamışken, Crohn hastalığı ile TNF- α -857 polimorfizmi arasında muhtemel bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Rahbar ve ark., 2014).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışmada Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran, FMF risk analizi tetkiki istenen, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında çalışılan bu tetkik sonucunda FMF mutasyonları tespit edilen 100 adet FMF Hastası hasta grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubunu ise 112 adet FMF mutasyonu taşımayan, bilinen herhangi bir immünolojik hastalığı (FMF, Behçet, Çölyak, Romatoid Artrit gibi) bulunmayan kişiler oluşturmuştur.

Çalışmaya başlamadan önce GOÜ Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuru yapılarak ve 13 KAEK-011 proje numarasıyla etik kurul onayı alınmıştır.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışma için seçilen bireylere çalışma konusu hakkında bilgi verilerek "Aydınlatılmış Onam Formu" imzalatılmış ve çalışmaya katılmaları adına onayları alınmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin rutin tetkikler için verdikleri EDTA içeren tüplere alınan tam kan örnekleri GOÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Moleküler Biyokimya Laboratuvarı'nda +4 °C' de saklanmıştır. Toplanan tam kanlardan elde edilen DNA örnekleri çalışma için gerekli sayıya ulaşana kadar -80 °C' de bekletilmiştir.

3.3. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu Vivantis marka GF-1 Blood DNA Extraction Kit kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonunda uygulanan prosedür aşağıdaki gibidir:

- EDTA'lı tüpte bulunan tam kan oda sıcaklığına getirildikten sonra alt-üst edilerek homojenize edilmiştir.

- EDTA'lı tüpte bulunan tam kandan 200 µL 1,5 mL hacimli tüpe alınarak üzerine 200 µL binding buffer ve 20 µL proteinaz K konduktan sonra karıştırılmıştır.
- Isı bloğunda 10 dakika boyunca 65°C sıcaklığında beklemeye bırakılan karışım üzerine 200 µL saf etanol eklendikten sonra tekrar karıştırılmıştır.
- Filtreli tüpe konulan karışım 1 dk süreyle 5000 rpm' de santrifüj edilip dipte kalan sıvı uzaklaştırılmıştır.
- Filtreli tüpe 500 µL wash buffer 1 eklenip 1 dk süreyle 5000 rpm' de santrifüj edilmiştir.
- Dipte kalan fazla sıvı uzaklaştırılıp filtreli tüpe 500 µL wash buffer 2 eklenmiştir.
- Filtreli tüp 1 dk süreyle 5000 rpm' de santrifüj edilip dipte kalan fazla sıvı uzaklaştırılmıştır.
- Filtreli tüpe 500 µL wash buffer 2 tekrar eklenmiş ve 3 dk süreyle 5000 rpm' de santrifüj edilmiştir.
- Yine dipte kalan fazla sıvı uzaklaştırılarak, filtreli tüp 10 saniye süreyle 13,000 rpm' de santrifüj edilmiştir.
- Filtreli tüp yeni bir tüpe alınmış ve önceden 65°C sıcaklıkta ısıtılmış 100 µL elution buffer, filtreli tüpe konulmuştur.
- 5000 rpm' de 1 dk süreyle santrifüj edilerek, filtre uzaklaştırılmıştır.
- Tüp içerisinde kalan sıvıda DNA bulunmaktadır.

Elde edilen DNA'lar çalışmamızda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

3.4. Polimorfizmlerin Tespit Edilmesi

Real-Time PCR ile FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) hibridizasyon problemleri ve erime eğrisi analizi ile IL-10 (G/A), IL-10-819 (C/T), IL-10-592 (C/A) ve TNF- α -308 (G/A) polimorfizmlerinin tespiti yapılmıştır.

Real-Time PCR ve erime eğrisi analizi LightCycler[®] 480 II (Roche Diagnostics Ltd., Rotkreuz, Switserland) cihazında, LightCycler[®] 480 Software 1.5.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uygulanan Real-Time PCR işlemi sonunda DNA

miktarındaki artışı gösteren amplifikasyon eğrisi, erime eğrisi analizi sonucu elde edilen eğrime eğrisi ve erime eğrisinden elde edilen erime piki grafikleri elde edilmiş olup bu grafiklere göre IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T), IL-10-592 (C/A) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizmleri tespit edilmiştir.

IL-10-1082(G/A), IL-10-819 (C/T), IL-10-592 (C/A) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizmlerinin tespiti için gerekli olan primer ve prob setleri, daha önce yapılmış bir çalışmaya göre sentezletirilmiştir (Castro-Santos ve ark., 2006) (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T), IL-10-592 (C/A) ve TNF- α -308 (G/A) Polimorfizmlerin tespitinde kullanılan primer ve prob dizileri (TIB MOLBIOL, Syntheselabor, Berlin, Germany).

	Primer/Prob	Oligonükleotit Dizisi
IL-10-1082	Forward Primer:	5'-ATCCAAGACAACACTACTAAGGC
	Rewerse Primer:	5'-ATGGGGTGGGAAGAAGTTGAA
	Prob1:	5'-GGATAGGAGGTCCCTTACTTTCTCTTACC-FL
	Prob2:	5'-LC640-CCCTACTTCCCCCTCCCAA-PH
IL-10-819	Forward Primer:	5'-TCATTCTATGTGCTGGAGATGG
	Rewerse Primer:	5'-TGGGGGAAGTGGGTAAGAGT
	Prob1:	5'-GGTGATGTAACATCTCTGTGCCTC-FL
	Prob2:	5'-LC640-TTTGCTCACTATAAAATAGAGACGGTAGGG-PH
IL-10-592	Forward Primer:	5'-GGTGAGCACTACCTGACTAGC
	Rewerse Primer:	5'-GCAGCCCTTCCATTTTACTTTC
	Prob1:	5'-AGCCTGGAACACATCCTGTGACCCC-FL
	Prob2:	5'-LC640-CCTGTCCTGTAGGAAGCCAGTCTC-PH
TNF- α -308	Forward Primer:	5'-CCTGCATCCTGTCTGGAAGTTA
	Rewerse Primer:	5'-CTGCACCTTCTGTCTCGGTTT
	Prob1:	5'-AACCCCGTCCCCATGCCCC-FL
	Prob2:	5'-LC640-CAAAACCTATTGCCTCCATTTCTTTGGGGAC-PH

IL-10-1082, -819 ve TNF- α -308 gen polimorfizmlerinin tespiti için gerekli PCR koşulları Tablo 3.2. deki gibi optimize edilmiştir.

Tablo 3.2. IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizmlerinin tespiti için gerekli PCR koşulları.

İçerik	Hacim	Başlangıç Konsantrasyonu	Son Konsantrasyon
H₂O	3,4 μ L	-	-
Forward Primer	2 μ L	5 pmol/mL	0,5 mM
Reverse Primer	2 μ L	5 pmol/mL	0,5 mM
Prob1	2 μ L	1,5 pmol/mL	0,15 mM
Prob2	2 μ L	1,5 pmol/mL	0,15 mM
MgCl₂	1,6 μ L	25 mM	2 mM
FastStart Master Mix	2 μ L	10X	1X
Kalıp DNA	5 μ L	40 ng/mL	10 ng/mL
Toplam hacim	20 μ L	-	-

PCR karışımı hazırlandıktan sonra, polimorfizm tespiti yapmak üzere Light Cycler 480 II cihazına yerleştirilmiştir ve Tablo 3.3.'de gösterilen PCR prosedürü uygulanmıştır.

Tablo 3.3. IL-10-1082 (G/A), IL-10-819 (C/T) ve TNF- α -308 (G/A) gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü

PCR Aşaması	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denaturasyon	95°C	600 sn	1
	95°C	6 sn	
Amplifikasyon	63°C	10 sn (Tek Okuma)	30
	72°C	22 sn	
	95°C	30 sn	
Erime Eğrisi Analizi	40°C	30 sn	1
	75°C	0,19 °C/sn (Sürekli Okuma)	
Soğutma	40°C	30 sn	1

IL-10-592 gen polimorfizminin tespiti için diğerlerinden farklı bir PCR prosedürü izlenmiştir (Tablo 3.4.)

Tablo 3.4. IL-10-592 (C/A) gen polimorfizmlerinin tespiti için gerekli PCR koşulları

İçerik	Hacim	Başlangıç Konsantrasyonu	Son Konsantrasyon
H₂O	3,4 µL	-	-
Forward Primer	2 µL	5 pmol/mL	0,5 mM
Reverse Primer	2 µL	5 pmol/mL	0,5 mM
Prob1	2,4 µL	1,5 pmol/mL	0,18 mM
Prob2	2,4 µL	1,5 pmol/mL	0,18 mM
MgCl₂	0,8 µL	25 mM	1 mM
FastStart Master Mix	2 µL	10X	1X
Kalıp DNA	5 µL	40 ng/mL	10 ng/mL
Toplam hacim	20 µL	-	-

Tablo 3.5. IL-10-592 (C/A) gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü

PCR Aşaması	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denaturasyon	95°C	600 sn	1
	95°C	6 sn	
Amplifikasyon	64°C	10 sn (Tek Okuma)	33
	72°C	22 sn	
Erime Eğrisi Analizi	95°C	30 sn	1
	40°C	30 sn	
	80°C	0,19 °C/sn (Sürekli Okuma)	
Soğutma	40°C	30 sn	1

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır (SPSS Inc. Chicago, IL). Kontrol ve FMF grubundaki IL-10 ve TNF- α polimorfizmlerinin allel, genotip ve haplotip frekansları arasında Ki-kare testi uygulanmıştır ve $P < 0,05$ bulunan değerler, istatistiksel bakımdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

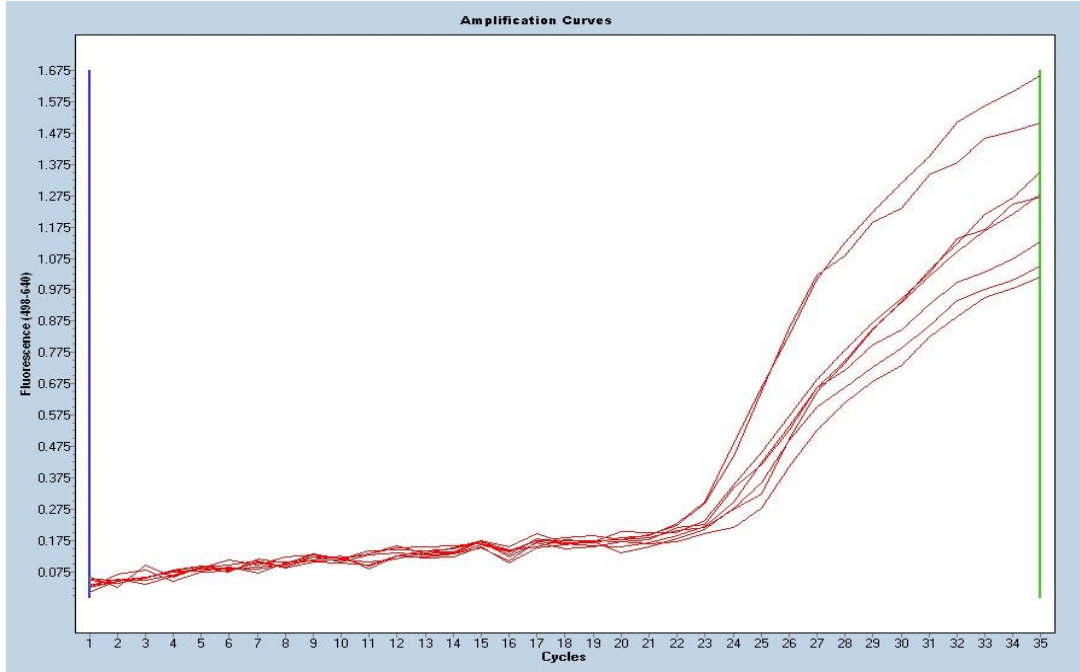
Analizleri sonucunda oluşan erime eğrisinde, pik derecelerine göre hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin genotiplendirilmeleri IL-10-1082 (G/A) polimorfizmi için; IL-10-1082 (AA), IL-10-1082 (AG), IL-10-1082 (GG) olarak belirlenmiş olup, çalışma sonunda elde edilen amplifikasyon eğrisi, erime eğrisi ve erime piki grafikleri Şekil 3.1., Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.de gösterilmiştir.

IL-10-1082 (G/A) polimorfizmi için genotip belirlenirken erime eğrileri ve erime pikleri aşağıdaki gibi yorumlanmıştır:

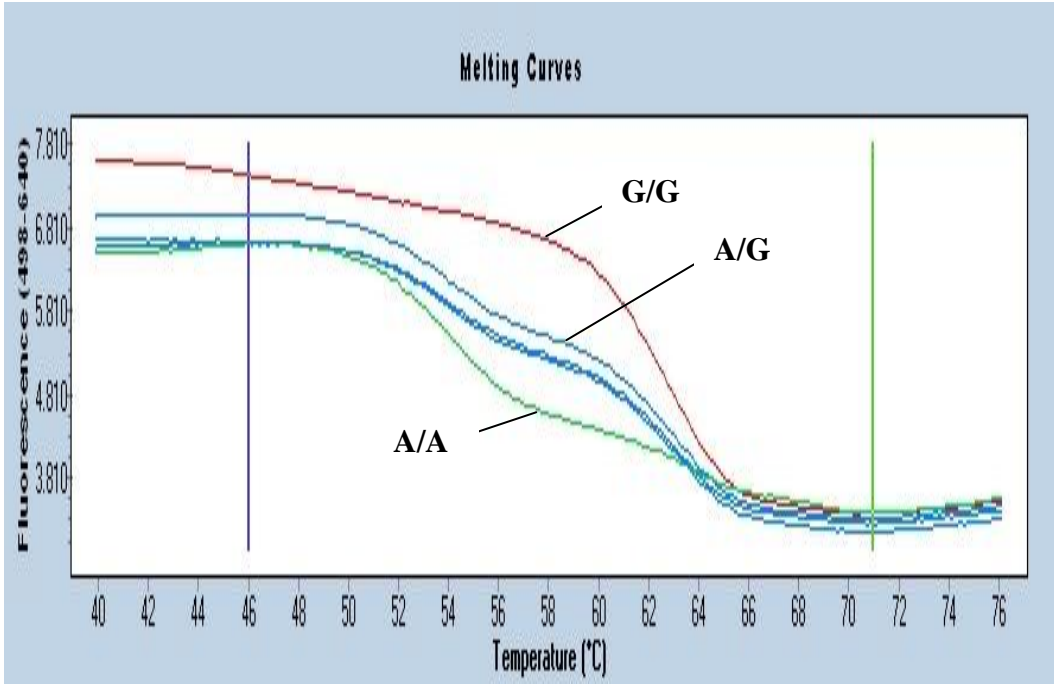
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 60°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de G/G genotipi görülmektedir.

Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 60°C ve 54°C de iki pik şeklinde ise A/G genotipi görülmektedir.

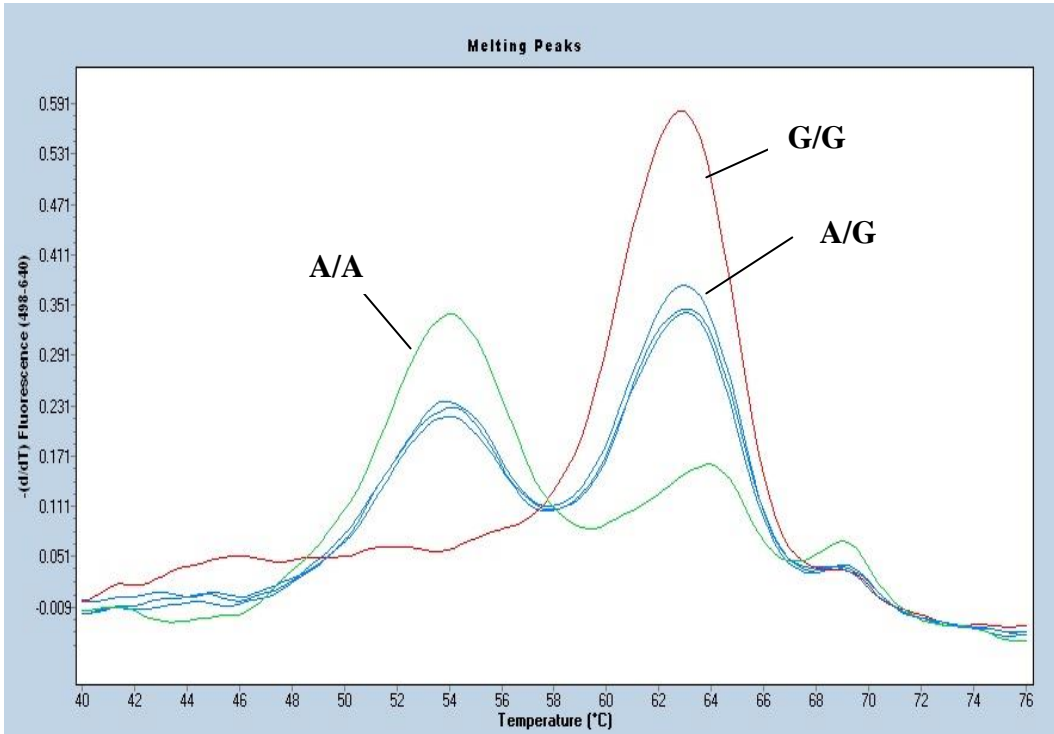
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 54°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de A/A genotipinin göstermektedir.



Şekil 3.1. IL-10-1082 (G/A) için amplifikasyon eğrisi



Şekil 3.2. IL-10-1082 (G/A) için erime eğrisi



Şekil 3.3. IL-10-1082 (G/A) için erime pikleri

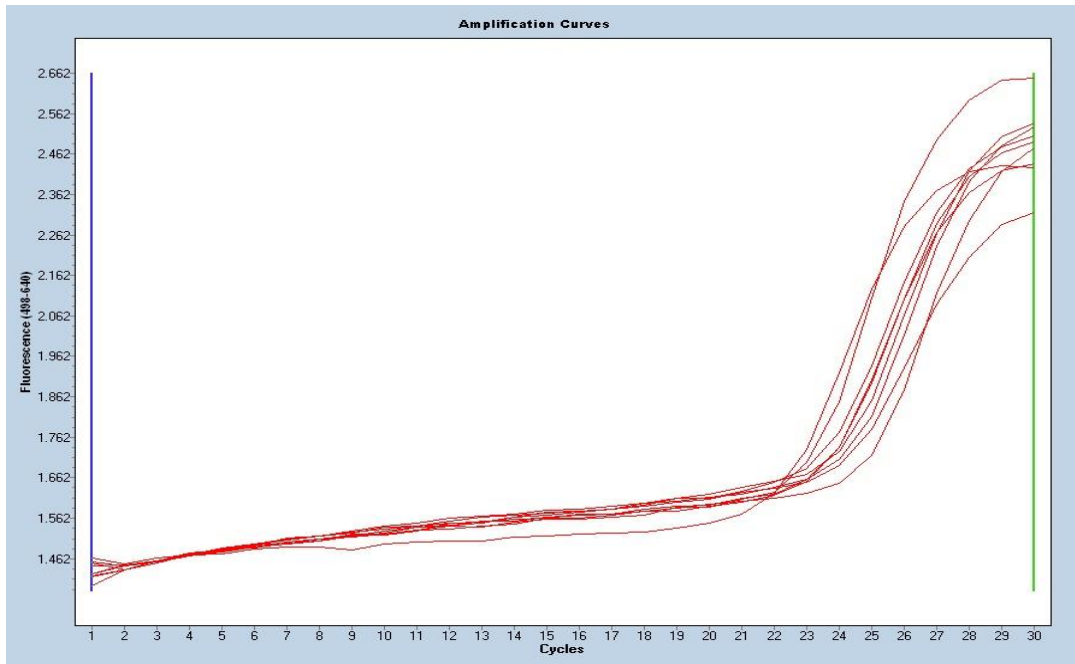
IL-10-819 (C/T) polimorfizmi için; IL-10-819 (CC) IL-10-819 (CT) IL-10-819 (TT) olarak belirlenmiş olup, çalışma sonunda elde edilen amplifikasyon eğrisi, erime eğrisi ve erime piki grafikleri Şekil 3.4. Şekil 3.5. ve Şekil 3.6.da gösterilmiştir.

IL-10-819 (C/T) polimorfizmi için genotip belirlenirken erime eğrileri ve erime pikleri aşağıdaki gibi yorumlanmıştır:

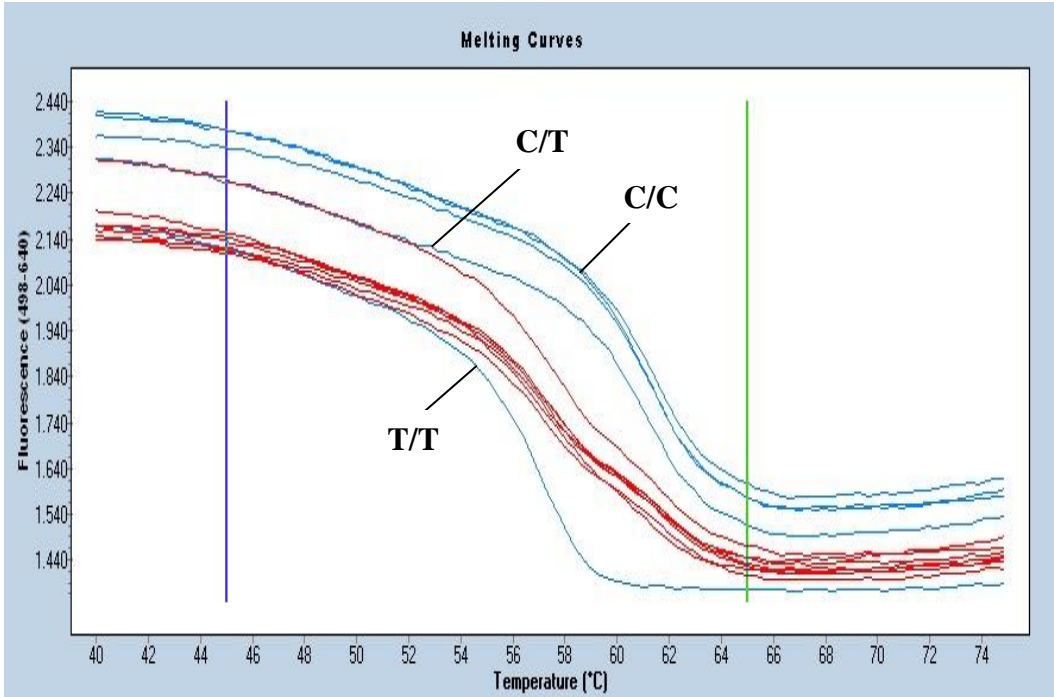
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 64°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de C/C genotipi görülmektedir.

Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 64°C ve 55°C de iki pik şeklinde ise C/T genotipi görülmektedir.

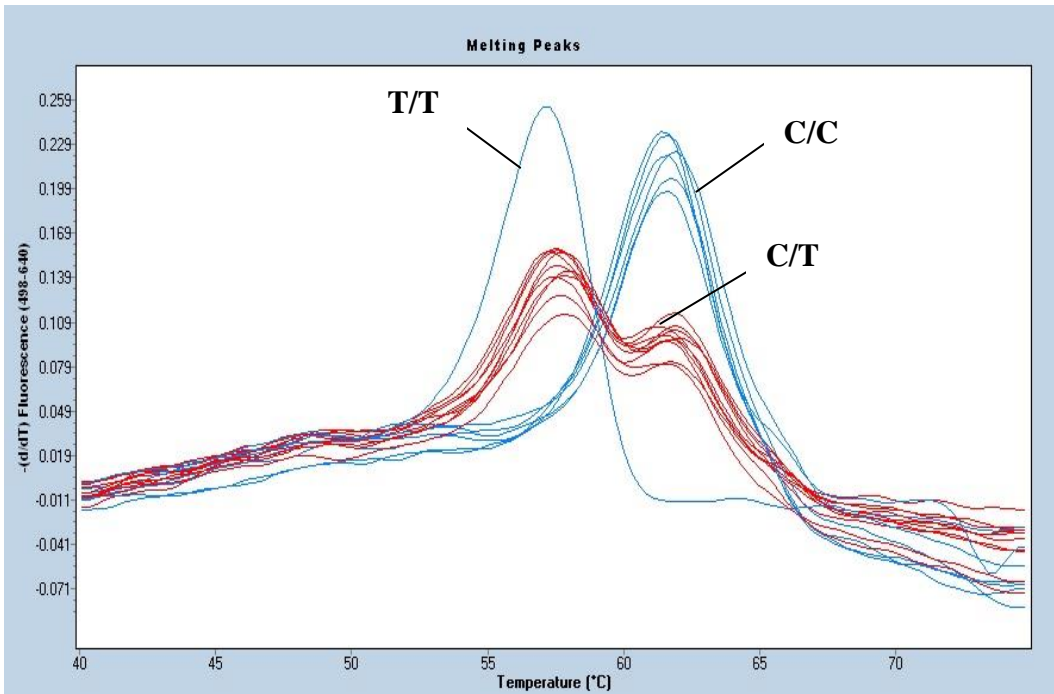
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 55°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de T/T genotipinin göstermektedir.



Şekil 3.4. IL-10-819 (C/T) için amplifikasyon eğrisi



Şekil 3.5. IL-10-819(C/T) için erime eğrisi



Şekil 3.6. IL-10-819 (C/T) için erime pikleri

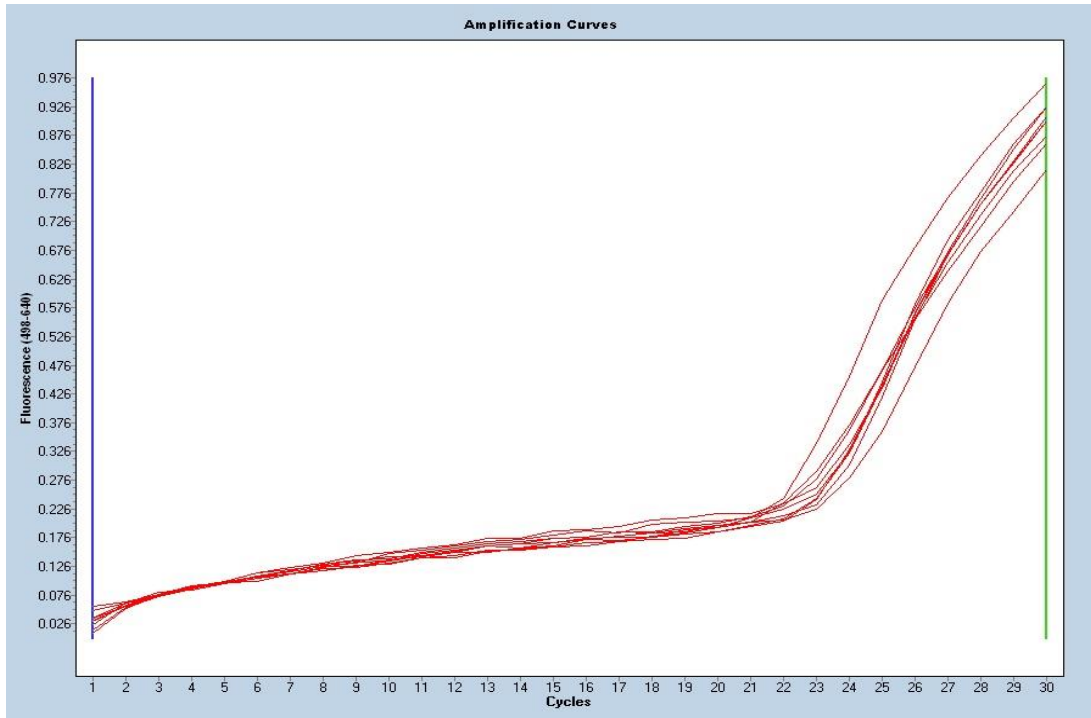
TNF- α -308 (G/A) polimorfizmi için; TNF- α -308 (AG) ve TNF- α -308 (GG) olarak belirlenmiş olup, çalışma sonunda elde edilen amplifikasyon eğrisi, erime eğrisi ve erime piki grafikleri Şekil 3.7. Şekil 3.8.ve Şekil 3.9. da gösterilmiştir.

TNF- α -308 (G/A) polimorfizmi için genotip belirlenirken erime eğrileri ve erime pikleri aşağıdaki gibi yorumlanmıştır:

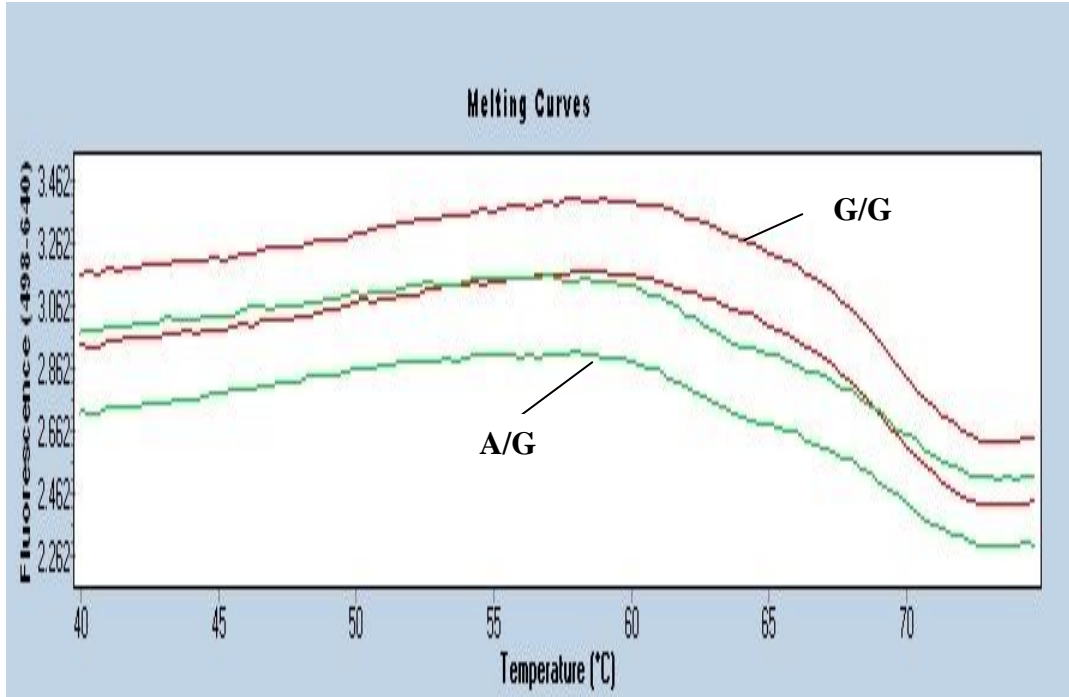
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 70°C de tek bir pik şeklinde ise iki allelde G/G genotipi görülmektedir.

Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 58°C ve70°C de iki pik şeklinde ise A/G genotipi görülmektedir.

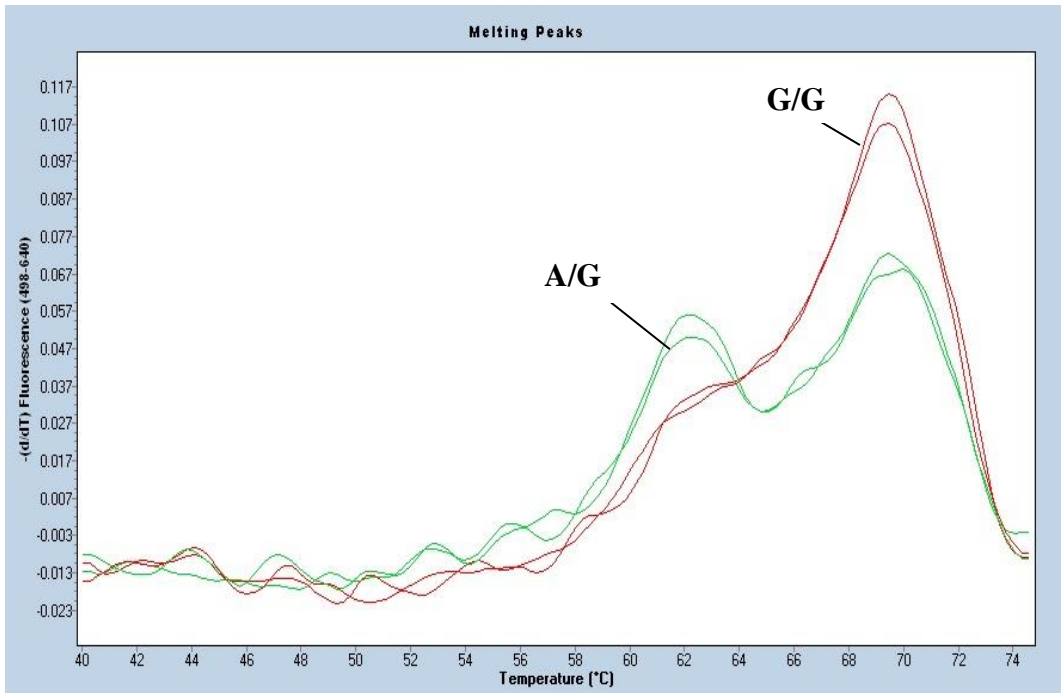
TNF- α -308' de A/A genotipi gözlenememiştir.



Şekil 3.7. TNF- α -308 (G/A) için amplifikasyon eğrisi



Şekil 3.8. TNF- α -308 (G/A) için erime eğrisi



Şekil 3.9. TNF- α -308 (G/A) için erime pikleri

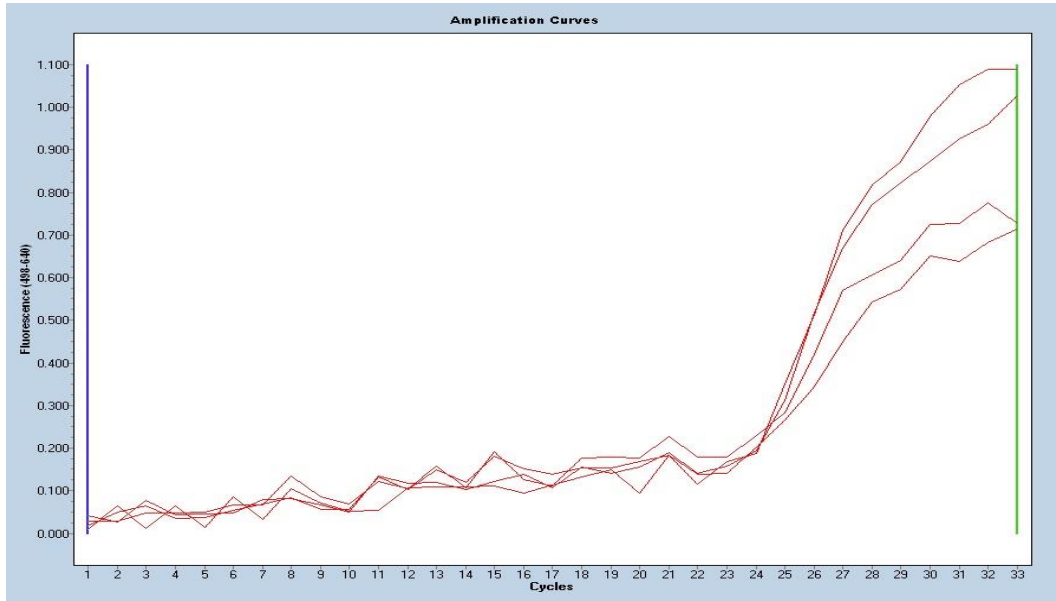
IL-10-592 (C/A) polimorfizmi için; IL-10-592 (CC) IL-10-592 (CA) IL-10-592 (AA) olarak belirlenmiş olup, çalışma sonunda elde edilen amplifikasyon eğrisi, erime eğrisi ve erime piki grafikleri Şekil 3.10. Şekil 3.11. ve Şekil 3.12. de gösterilmiştir.

IL-10-592 (C/A) polimorfizmi için genotip belirlenirken erime eğrileri ve erime pikleri aşağıdaki gibi yorumlanmıştır:

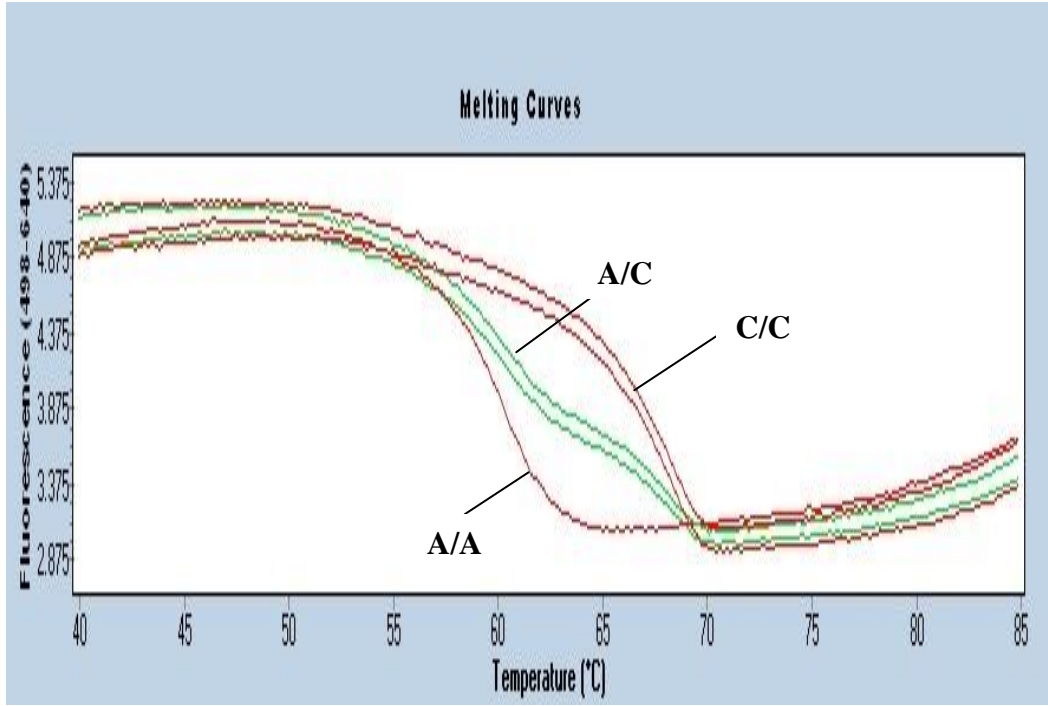
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 68°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de C/C genotipi görülmektedir.

Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 68°C ve 55°C de iki pik şeklinde ise C/A genotipi görülmektedir.

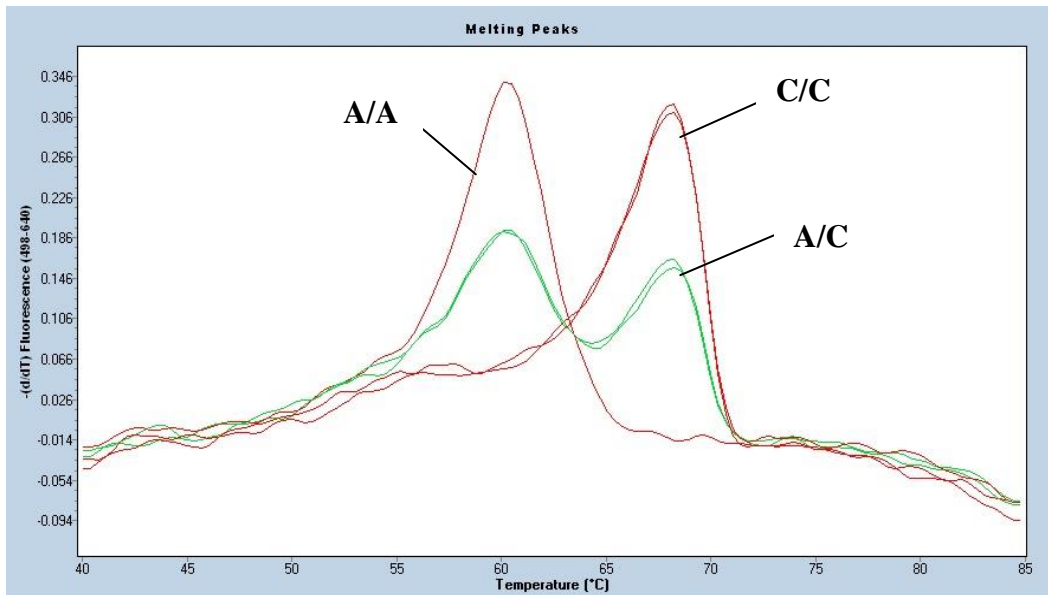
Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 55°C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de A/A genotipinin göstermektedir.



Şekil 3.10. IL-10-592 (C/A) için amplifikasyon eğrisi



Şekil 3.11. IL-10-592 (C/A) için erime eğrisi



Şekil 3.12. IL-10-592 (C/A) için erime pikleri

4.1. Demografik Özellikler

Kontrol grubunu oluşturan 112 bireyin %60'ı erkek, %40'ı ise kadın olup, FMF hastası grubunu oluşturan 100 bireyin ise %46'sı erkek, %54'ü kadın olarak belirlenmiştir.

4.2. Genotip Frekansları

Kontrol ve hasta gruplarının genotip frekanslarına bakıldığında; kontrol grubunda IL-10-1082 (G/A) genotiplerinin yüzde oranları %34 A/A, %53 A/G ve %13 G/G olarak tespit edilmiş olup, FMF hastaları grubunda ise bu oranlar %31 A/A, %60 A/G ve %9 G/G olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. IL-10-1082 (G/A) genotip frekansları

Genotip	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
A/A	38 (%34)	31 (%31)
A/G	59 (%53)	60 (%60)
G/G	15 (%13)	9 (%9)
P= 0,462		

IL-10-819 (C/T) genotiplerinde ise kontrol grubunda; %44 C/C, %44 C/T ve % 12 T/T, hasta grubunda ise; %48 C/C, %36 C/T ve % 16 T/T olarak tespit edilmiştir.

IL-10-592 (C/A) genotipinde aynı sonuçlara ulaşılmıştır (Tablo 4.2 ve 4.3).

Tablo 4.2. IL-10-819 (C/T) genotip frekansları

Genotip	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
C/C	49(%44)	48(%48)
C/T	50 (%44)	36 (%36)
T/T	15 (%12)	16 (%16)
P =0,382		

Tablo 4.3. IL-10-592 (C/A) genotip frekansları

Genotip	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
C/C	49(%44)	48(%48)
C/A	50 (%44)	36(%36)
A/A	15 (%12)	16 (%16)
P =0,382		

TNF- α -308 (G/A) genotiplerindeki yüzdelik değerler ise; kontrol grubunda %25 A/G ve %75 G/G bulunmuşken, hasta grubunda %30 A/G ve %70 G/G olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. TNF- α -308 (G/A) genotip frekansları

Genotip	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
AG	28(%25)	30(%30)
G/G	84(%75)	70 (%70)
P =0,415		

4.3. Allel Frekansları

Kontrol ve FMF grubu arasındaki allel frekansları incelendiğinde IL-10-1082 (G/A) polimorfizminde gözlenen A allelinin frekansı kontrol grubunda %60, FMF grubunda ise %61 olarak tespit edilmiştir. G allelinin frekansı ise kontrol grubunda %40, FMF grubunda ise %39 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. IL-10-1082 allel frekansları.

Allel	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
G	89(%40)	78(%39)
A	135(%60)	122(%61)
P =0,878		

IL-10-819 ve-592’de ise, her iki grupta da C alleli %66 olarak; T alleli (IL-10-592’de A alleli) %34 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. IL-10-819/592 allel frekansları

Allel	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
T(A)	76 (%34)	68 (%34)
C (C)	148 (66)	132 (%66)
P =0,988		

TNF- α -308 polimorfizminde gözlenen A alleli frekansı ise; kontrol grubunda %12,5; FMF grubunda %15 olarak bulunmuştur. G alleli ise; kontrol grubunda %87,5; FMF grubunda %85 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. TNF- α -308 allel frekansları.

Allel	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
A	28 (%12,5)	30 (%15)
G	196 (%87,5)	170 (%85)
P =0,455		

Yapmış olduğumuz çalışmada, IL-10' da genotip frekanslarının arasındaki dağılımı göstermek adına aşağıdaki tabloda yer alan veriler elde edilmiştir. GCC⁺/GCC⁻ genotipleri her iki grupta da en yüksek sıklıkta bulunurken, GCC⁺/GCC⁺ genotipi en düşük sıklıkta görülmüştür (Tablo 4.8). FMF grubu ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları bakımından istatistiksel bir fark bulunamamıştır (P=0,633; P>0,05).

Tablo 4.8. IL-10 genotiplerinin kontrol ve FMF grubunda karşılaştırmalı dağılımı

IL 10 Genotipleri	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
GCC ⁺ /GCC ⁺	13 (%11,6)	9 (%9)
GCC ⁺ /GCC ⁻	58 (%51,7)	58 (%58)
GCC ⁻ /GCC ⁻	41 (%36,6)	33 (%33)
P =0,633		

4.4. Haplotip Analizi

Araştırılan SNP'lerin oluşturduğu haplotiplerin kontrol ve FMF grubundaki dağılımı ve frekansı hesaplanmıştır. Buna göre çalışmada, GCC ve ATA, ACC ve daha az sıklıkta GTA haplotipleri belirlenmiştir (Tablo 4.9). En yüksek sıklıkta rastlanan GCC haplotipi, FMF ve kontrol gruplarında paralel sonuçlar vermiştir. Haplotip

dağılımları, kontrol ve FMF grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermemiştir (P=790, P>0,05).

Tablo 4.9. IL-10 haplotiplerinin kontrol ve FMF grubunda karşılaştırmalı dağılımı

IL-10 Haplotipleri	Kontrol <i>n</i> = 112	FMF <i>n</i> = 100
GCC	84 (%37,5)	76 (%38)
ACC	64 (28,5)	56 (28)
ATA	71(%31,7)	66 (%33)
GTA	5 (%2,3)	2 (%1)
P =0,790		

4.5. TNF α /IL-10 genotiplerinin ilişkili analizi

TNF- α -308 ve IL-10 haplotipleri TNF- α yüksek/IL-10 yüksek, TNF- α yüksek/IL-10 orta, TNF- α yüksek/IL-10 düşük, TNF- α düşük/ IL-10 yüksek, TNF- α düşük/ IL-10 orta ve TNF- α düşük/IL-10 düşük olarak 6 grupta sınıflandırılmıştır.

TNF- α ve IL-10 genotipleri, FMF ve kontrol gruplarında kombine edilerek analiz edildiğinde, IL10 GCC⁺/GCC⁻ (orta)/TNF308 α A taşıyıcı (A/G) (yüksek) genotipinde anlam bulunmuşken (p=0014, p<0,05), diğer genotiplerde herhangi bir anlam tespit edilememiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Kontrol ve FMF grubunda TNF α /IL-10 polimorfizminin kombinasyonu.

TNF α /IL-10 GENOTİPLERİ	Kontrol n=112	FMF hastaları n= 100	P
IL10 GCC ⁺ /GCC ⁺ (yüksek)/TNF308 α (A/G) (yüksek)	6(%5)	4(%4)	0,752
IL10 GCC⁺/GCC⁻(orta)/TNF308α (A/G) (yüksek)	10(%9)	22(%22)	0,014
IL10 GCC ⁻ /GCC ⁻ (düşük)/TNF308 α (A/G) (yüksek)	12(%11)	4(%4)	0,112
IL10 GCC ⁺ /GCC ⁺ (yüksek)/TNF308 α G/G (düşük)	7(%6)	5(%5)	0,924
IL10 GCC ⁺ /GCC ⁻ (orta)/TNF308 α G/G (düşük)	48(%43)	36(%36)	0,308
IL10 GCC ⁻ /GCC ⁻ (düşük)/TNF308 α G/G (düşük)	29(%26)	29(%29)	0,612

4.6. Diplotip Analizi

Haplotiplerin dağılımları, FMF ve kontrol gruplarında analiz edildiğinde düşük IL-10 yapımına neden olan ATA/ATA haplotipi FMF grubunda %14 olarak bulunmuşken, kontrol grubunda %9 olarak tespit edilmiştir. Fakat bu fark istatistiksel anlam taşımamaktadır ($p>0,05$). En sık görülen haplotiplerden GCC/ACC haplotipi FMF grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ancak, istatistiksel olarak bu fark anlamlı değildir ($p=0,082$).

Bunun yanı sıra yaptığımız çalışmada IL-10 polimorfizminde nadir görülen haplotip gruplarından GTA haplotipine de rastlanmıştır. Hem kontrol hem de FMF grubunda bu haplotip tespit edilmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. IL-10 haplotiplerinin FMF ve Kontrol gruplarındaki zigotik dağılımı.

IL-10 Diplotipi	Kontrol Grubu n= 112	FMF hastaları n=100	P
ACC/ACC	12(% 11)	6(% 6)	0,326
ACC/ATA	16(% 14)	11(% 11)	0,610
ATA/ATA	10(% 9)	14(% 14)	0,344
GCC/ACC	24(% 21)	33(% 33)	0,082
GCC/ATA	33(% 29)	25(% 25)	0,467
GCC/GCC	13(% 12)	9(% 9)	0,692
GCC/GTA	1(% 1)	0	0,999
GTA/ATA	2(% 2)	2(% 2)	0,999
GTA/GTA	1(% 1)	0	0,999

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İmmün fonksiyonların düzenlenmesini sağlayan, bağışıklık sistemi hücrelerinin kontrolü altında sentezlenen ve suda çözünebilen proteinler olan sitokinler, enflamasyon ya da antijen varlığında uyarılarak sentezlenmektedirler. Özellikle cevap oluşturmada etkileşim halinde olan sitokinler, hedef genin aktivasyonu ya da ekspresyonu ile bu etkileşime geçmektedirler (Borish ve ark., 2003; Drenth ve ark., 2006).

Lökositler tarafından sentezlenen ve oldukça geniş bir aile olan interlökinler, hücrede meydana gelen enflamasyon sonucu dokuda oluşan hasarı sonlandırma etkisi ile antienflamatuar olarak, enflamatuar cevabın oluşması için gerekli olan hücreleri stimüle etmesi ile de proenflamatuar olarak görev yapmaktadırlar (Agnihotri ve ark., 2012). Sitokinlerden IL-10 ve TNF- α enflamatuar cevap oluşturmada farklı yönlerde görev alır. IL-10, TNF- α ve IL-12 gibi proenflamatuar sitokinlerin sentezini inhibe ederek enflamasyonu baskılar (Rahim ve ark.,2005).

Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, bir grupta ya da bireyler arasında %1 den daha sık şekilde DNA diziliminde görülen değişikliklerdir. En sık görülen değişiklikler SNP olarak bilinen tek nokta polimorfizmleridir. DNA üzerinde tek nükleotidde meydana gelen bu değişimler, bazen genin yapısında değişime neden olarak farklı ürün sentezlenmesine neden olurken, bazen de gen üzerinde meydana gelen değişim aynı aminoasidi kodlayan farklı bir kodon oluşuma neden olur. bu durumda farklı bir ürün meydana gelmez.

Genetik çeşitliliğin artmasına neden olan SNP'ler, popülasyona, etnik kökene ve çevre koşullarına bağlı olarak farklı dağılım gösterebilir (Smith, 2002). Özellikle de hastalık bazında yapılan taramalarda SNP profilleri, popülasyonun hangi hastalığa daha fazla yatkın olduğuna dair bizi bilgilendirebilir. Sitokin genleri içindeki polimorfizmlerin çoğu varsayılan yada bilinen düzenleyici bölgelerde meydana gelmektedir (Bidwell ve ark., 1998). Düzenleyici bölgelerde meydana gelen polimorfizmler ilaç yanıtı ya da toksisitesi üzerinde değişimlere neden olabilmektedir.

İnterlökin-10, enflamatuar yanıt oluşturmada süpresor etkiye sahip olan hücresel ve hümorale yanıtta dengeyi sağlayan, makrofaj üzerindeki molekülleri inhibe eden bir

sitokindir. Oluşturmuş olduğu bu antienflamatuar etki ile FMF hastalığı üzerinde de önemli rol üstlenmektedir. Bir çok enflamatuar hastalığın, interlökin-10 polimorfizmiyle olan ilişkisi araştırılmıştır (Tablo 2.5).

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), IL-10'un aksine proenflamatuar bir sitokin olup, immün sistem hücrelerinin birçoğu (makrofaj, monosit, fibroblast, endotel hücreler, B hücreleri gibi) tarafından üretilmektedir. Enfeksiyon oluşumuna defans olarak üretilen TNF- α , bağlandığı reseptöre göre, apoptozis, enflamasyon ya da aktivasyon sonuçlarını doğurur. Lokal enfeksiyon ve enflamasyon bölgelerinde immün cevabı başlatarak, antimikrobiyal savunma sistemlerinin devreye girmesini sağlar (Van Heel ve ark., 2002; Asghar ve ark., 2004).

TNF- α geni de IL-10 gibi polimorfik bir gen olup, yapılan çalışmalar sonucu üzerindeki SNP'lerin bir çok enfeksiyon ve enflamatuar hastalık oluşumuna yatkınlık oluşturabildiği sonucuna varılmıştır (Aguillo'n ve ark., 2006; Kuroda ve ark., 2013; Rahbar ve ark., 2014).

FMF hastalığı, karın ağrısı, tekrarlayan ateş, artrit, poliserözit gibi belirtiler gösteren, özellikle, Ermeni, Arap, Türk ve Yahudilerde sık görülen otozomal resesif geçişli bir enflamatuar hastalıktır (Sohar ve ark., 1967; Ece ve ark., 2014). Genellikle 20 yaşının altındayken ilk atak geçirildiğinden, teşhis erken dönemlerde konulmaktadır.

Hastalığın oluşumunda MEFV geni üzerinde meydana gelen mutasyonların oldukça önemli olduğu bilinmektedir. MEFV geninin kodladığı pirin proteini enflamasyonun kontrol altında tutulmasından sorumludur. Bu bölgede meydana gelen mutasyonlar, enflamasyon kontrolünü sağlamada yetersiz kalınmasına neden olabilir.

Homozigot olduğu durumlarda amiloidoz oluşumuna neden olan M694V mutasyonu, FMF hastalarının da büyük bir bölümünde görülmektedir (Akar ve ark., 2000; Yılmaz ve ark., 2003). FMF hastalığı oluşumunun, sadece mutasyondan kaynaklı olmadığı, bununla birlikte çevresel etkinin de hastalık patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Akbaş, 2009).

Hastalığın bilinen tek tedavisi kolşisin ile gerçekleşmektedir. Ancak kolşisin, hastalığın tamamen iyileştirilmesini sağlamamakta, yalnızca atak geçirilmesine engel olmaktadır. İlaç bırakıldığında tekrar ataklar görülmektedir.

Enflamatuar bir hastalık olan FMF hastalığı ile enflamatuar yanıtta önemli rol oynayan sitokinler arasındaki ilişkiyi aydınlatma adına yapılan çalışmalar henüz çok az

sayıdadır. Yapılan araştırmalarda IL-4 gen polimorfizmiyle FMF hastalığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuşken, IL-6, IL-1 β , TNF- α gen polimorfizmleri ile anlamlı bir sonuç elde edilemediği belirtilmiştir (Karahana ve ark., 2005; Kobak ve ark., 2007; Balci-Peynircioğlu ve ark., 2008; Bonyadi ve ark., 2012; Dündar ve ark., 2013; Yigit ve ark., 2014).

Polimorfik bir gen olan İnterlökin-10' un promotor bölgesinde, pozisyon -1082 G>A, -819 C>T ve -592 C>A'nın içinde bulunduğu  biallelik polimorfizm görülmektedir. GCC, ACC ve ATA nın yanı sıra daha nadir olarak görülen GTA haplotipi, interlökin-10 ekspresyonunun seviyesi ile ilişkilidir. ATA haplotipi, düşük IL-10 ekspresyonuna neden olurken, ACC orta seviyede, GCC ise yüksek IL-10 ekspresyonu ile ilişkilidir. Her popülasyonda aynı dağılımı göstermeyen IL-10 geninin polimorfik bölgeleri ve frekansları, coğrafi ve etnik duruma göre farklı dağılım gösterebilmektedir (Tablo 2.5). Ancak genelde IL-10-1082 (G/A)'da G/G genotipi yüksek IL-10 yapımı ile ilişkili iken, -1082 (G/A) orta, -1082 (A/A) genotipi de düşük IL-10 retimi ile ilişkilidir. IL-10-819 (C/T) ve -592 (C/A)'nın IL-10 retimi üzerindeki etkisinin bağımsız olduğunu iddia eden çalışmaların yanı sıra -592' deki SNP'nin A allelinin düşük IL-10 salınımı ile ilişkili olduğunu öne süren çalışmalar da mevcuttur (Turner ve ark., 1997; Hutchinson ve ark., 1999; Marincola, 2006).

Yaptığımız bu çalışmada rastladığımız GTA haplotipi, çalışmamızda ki diğer haplotiplere göre daha düşük oranda tespit edilmiştir. FMF grubunda %1, kontrol grubunda da %2,3 olarak tespit edilen GTA haplotipi, istatistiksel olarak anlamlı bulunamamış ve farklı hastalıklarda daha önce yapılan IL-10 polimorfizmi çalışmaları sonuçlarının bazılarıyla paralellik göstermiştir (Kingo ve ark., 2003; Boiardi ve ark., 2006; Afzal ve ark., 2011a ; Afzal ve ark., 2011b). Ancak GTA haplotipinin, diğer haplotiplere göre daha sık görüldüğü ve istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu çalışmalar da mevcuttur (zbey ve ark., 2009; Afzal ve ark., 2012).

Yapmış olduğumuz çalışmada, daha önce araştırılmamış olan, İnterlökin-10-1082,-592,-819 ve TNF- α -308 gen polimorfizminin FMF hastalığı ile olan ilişkisinin açıklaması hedeflenmiştir.

Daha nce FMF hastalığı ile IL-10 arasındaki ilişki, serum seviyesinde araştırılmış ve IL-10 serum düzeyinin atak geçiren FMF hastaları ile kontrol grubu arasında bir değişiklik göstermediği belirtilmiştir (Baykal ve ark., 2003). Öte yandan

başka bir çalışmada da toplamda 24 hastanın plazma IL-10 seviyeleri analiz edildiğinde, hasta grubunun kontrol grubuna göre daha yüksek IL-10 seviyesine sahip olduğu bildirilmiştir (Erken ve ark., 2006).

2008 yılında yapılan bir çalışmada Ermeni kökenli FMF hastalarında IL-6, IL-10, IL-17 ve TGF- β gibi sitokinlerin atak geçirilmeyen dönemdeki hasta grubu ile kontrol grubu arasında önemli farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Türk kökenli hastalarda yapılan bir çalışmada ise IL-10 serum seviyesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şimşek ve ark., 2007). Bu da IL-10 serum seviyesinin, farklı popülasyonlarda farklı durumlar gösterebildiğinin bir kanıtı olarak öne sürülebilir.

IL-10'da olduğundan daha fazla çalışma yapılmış olan TNF- α polimorfizmi, FMF hastalığı ile bazı yayınlarda ilişkili bulunmuşken, bazısında ilişkili bulunamamıştır. Yapılan bir çalışmada FMF hastalarındaki TNF- α -308 GG'nin amiloidoz ve artrit gelişimine yatkınlık oluşturduğunu ve TNF- α -308 A allel frekansının da amiloidozlu hastalarda oldukça düşük olduğunu, aralarında koruyucu bir role sahip olabileceği bildirilmiştir (Bonyadi ve ark., 2012).

TNF- α promotor polimorfizminin FMF'e duyarlılığın belirlenmesinde bir belirteç olabileceğinin savunulduğu başka bir çalışmada ise, TNF- α -238 ve TNF- α -308 genotip dağılımları ve allel frekanslarının hasta ve kontrol grubunda benzer bulunduğu ve FMF akut ataklarının sıklığı ile bu genotipler arasında anlamlı bir ilişki bulunamadığı belirtilmiştir (Kobak ve ark., 2007).

FMF hastalarında amiloidoz gelişiminin araştırıldığı çalışmada ise, TNF- α -308 polimorfizminin AA tipi amiloidoz fenotipi ile belirgin bir ilişkisi olmadığı ve FMF hastalarında amiloidoz gelişimine etkisi bulunmadığı öne sürülmüştür (Yılmaz ve ark., 2003). Bunlara paralel olarak 2013 yılında yapılan çalışmada da TNF- α -308 genotipi ile FMF mutasyonları arasında bir ilişki bulunamamıştır (Demirel ve ark., 2007; Dündar ve ark., 2013).

Genotip frekansları incelendiğinde IL-10-1082 (G/A) 'nın yüksek IL-10 yapımı ile ilişkili olan G/G genotipinde, hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin bir düşüş olduğu gözlemlense de istatistiksel olarak bir anlam bulunamamıştır (Tablo.4.1). IL-10-819 ve-592'nin güçlü bir linkaj oluşturduğu, elde edilen veriler ışığında görülmüştür (Tablo.4.2 ve 4.3). TNF- α -308 gen polimorfizminde ise, A/A genotipine rastlanmamış ve A/G ve G/G genotiplerinin, IL-10-819 ve -592'de olduğu gibi kontrol ve hasta

gruplarında paralel sonuçlar verdiği ve istatistiksel olarak bir anlam taşımadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

IL-10 ve TNF- α polimorfizm kombinasyonuna bakıldığında IL-10 GCC⁺/GCC⁻ (orta)/TNF308- α (A/G) (yüksek) olduğu durumda istatistiksel olarak bir anlam bulunmuştur (P<0,005; P=0,014) (Tablo 4.10). Bulunan bu değer TNF- α 'nın proenflamatuvar, IL-10'un antienflamatuvar olarak görev almasıyla paralellik taşımaktadır. Ancak, diğer bulgulara bir anlam bulunamamasından dolayı, bu değer FMF hastalığı üzerinde önemli bir sonuç ifade ettiği söylenememektedir.

Ayrıca haplotip, diplotip analizi ve allel frekanslarının da analiz edildiği bu çalışmada FMF hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan bir anlam bulunamamıştır. Bu durum, antienflamatuvar bir sitokin olan IL-10 üzerindeki polimorfizmlerin, FMF hastalığına yatkınlık oluşturmada tek başına bir katkısı olmadığını düşündürmektedir.

Proenflamatuvar olan TNF- α gen polimorfizminin de, daha önce yapılan birkaç çalışmada FMF hastalığı ile ilişkili olduğu iddia edilse de bizim yaptığımız çalışmada herhangi bir ilişki bulunamadığını söylemek mümkündür. Bu durumun çalışılan hasta sayısının farklılığı, etnik köken ve çevresel etkenlerden kaynaklanabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda RFLP-PCR tekniğine göre çok daha güvenilir olan Real-Time PCR tekniğinin kullanılmış olması elde ettiğimiz verilerin tutarlılığını destekler niteliktedir.

Elde edilen tüm bu veriler ışığında, İnterlökin-10-1082,-592,-819 ve TNF- α -308 gen polimorfizminin FMF hastalığına yatkınlık oluşturmada herhangi bir etkisinin olmadığı ve hastalığın patogeneğinde bu polimorfizmlerin tek başına bir risk faktörü oluşturmadıkları kanısına varılmıştır.

Ancak sitokin genleri içindeki polimorfizmlerin çoğunun varsayılan ya da bilinen düzenleyici bölgelerde meydana gelmesinden dolayı, ekspresyonu düzenleyen sitokin genlerindeki ve reseptörlerindeki genetik polimorfizmlerin, bütün açılardan incelenmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Hastalığın genetik mekanizmasının aydınlanması, gelecekte FMF hastalığının sadece kolşisine bağımlı olan bir hastalık olmasından çıkarıp, belki de önlenebilir bir hastalık olmasını sağlayacaktır. Bu nedenle genetik açıdan çözülecek her bir düğüm,

hastalığın henüz çözülememiş olan patogenezini açığa kavuşturma bakımından önem taşımaktadır.

Enflamatuar bir hastalık olan FMF'in antiinflamatuvar ve proenflamatuar sitokinler ile genetik bağlantılarını aydınlatmak amacıyla yapılan bu çalışmanın, ileride IL-10 ile bağlantılı diğer sitokinler ile FMF hastalığı arasındaki ilişkiyi açıklamakta yardımcı olacağı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra hasta sayısı artırılarak birbiri ile bağıntılı olduğu düşünülen sitokinlerle birlikte yapılacak daha kapsamlı bir çalışmanın, FMF hastalığının sitokinlerle olan ilişkisini daha iyi açıklayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, AK., Lichtman, AH., Pober, JS. 1994. Cellular and Molecular Immunology, 2nd ed. Philadelphia, W.B. Saunders.
- Abbas, Z., Moatter, T., Hussainy, A. ve ark. 2005. Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3. World J. Gastroenterol; 11(42):6656-6661.
- Abdolrahim-Zadeh, H., Hakkakian, N., Asadollahi, R., Gharesifard, B., Sarvari, J., Kamali-Sarvestani, E., Talei, A. 2005. Interleukin-10 Promoter Polymorphisms and Breast Cancer Risk in Iranian Women. IJI. Vol 2:3.
- Afzal, MS., Anjum, S., Salman, A., Ashraf, S., Farooqi, Z.U.R., Ahmed, T., Ahmed, Y., Qadri, I. 2011a. Interleukin-10 gene promoter polymorphism as a potential host susceptibility factor in Pakistani patients with pulmonary tuberculosis. African Journal of Biotechnology Vol. 10(66),14706-14710.
- Afzal, MS., Ullah, S., Farooqi, Z.U.R., Anjum, S., Shafi, T., Ahmed, T., Ashraf, M., Qadri, I. 2012. "Association of interleukin-10 polymorphism and malarial susceptibility in Pakistani Population" Asian Biomedicine Vol. 6 No. 3; 337 - 342.
- Afzal, MS., Tahir, S., Salman, A., Baig, TA., Shafi, T., Zaidi, NU., Qadri, I. 2011b. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan. J Infect Dev Ctries 4;5(6):473-9.
- Agnihotri, R., Gaur, S. 2012. Chemically modified tetracyclines: Novel therapeutic agents in the management of chronic periodontitis. Indian J Pharmacol. 44(2):161-7.
- Aguillo'n, J.C., Cruzat, A., Aravena, O., Salazar, L., Llanos, C., Cuchacovich, M. 2006. Could single-nucleotide polymorphisms (SNPs) affecting the tumour necrosis factor promoter be considered as part of rheumatoid arthritis evolution?. Immunobiology. 211:75-84.
- Akar, N., Misiroglu, M., Yalcinkaya, F. ve ark. 2000. MEFV mutations in Turkish patients suffering from familial Mediterranean fever. Hum Mutat; 15: 118-9.
- Akarsu, A.N., Saatci, U., Ozen, S. ve ark. 1997. Genetic linkage study of familial Mediterranean fever (FMF) to 16p13.3 and evidence for genetic heterogeneity in the Turkish population. J Med Genet. 34: 573-8.
- Akbaş, A., 2009. FMF hastalarında GSH-Px (Glutasyon Peroksidaz) ve SOD (Süperoksid Dismutaz) enzim polimorfizmi. Uzmanlık Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tokat.
- Akdiş, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker S., Meyer, N., O'Mahony, L., Palomares, O., Rhyner, C., Ouaked, N., Schaffartzik, A., Van De Veen, W., Zeller, S., Zimmermann, M., Akdis, CA. 2011. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. J Allergy Clin Immunol. 127(3):701-21.e1-70.
- Akpolat, T., Özkaya, O., Özen, S. 2012. Homozygous M694V as a risk factor for amyloidosis in Turkish FMF patients. Gene. 15.492(1):285-9.
- Aksentijevich, I., ve Kastner, D. L. 2011. Genetics of monogenic autoinflammatory diseases: past successes, future challenges. Nat. Rev. Rheumatol. 7(8):469-78
- Aksentijevich, I., Torosyan, Y., Samuels, J., Centola, M., Pras, E., Chae, J.J., Oddoux, C., Wood, G., Azzaro, M., Palumbo, G., Giustolisi, R., Pras, M., Ostrer, H.,

- Kastner, DL.1999. Mutation and Haplotype Studies of Familial Mediterranean Fever Reveal Slew Ancestral Relationships and Evidence for a High Carrier Frequency with Reduced Penetrance in the Ashkenazi Jewish Population. *Am J Hum Genet*;64:949-962.
- Altunoğlu, A., Erten, Ş., Canoz, MB., Yuksel, A., Ceylan, GG., Balci, S., Dogan, HT.2013. Phenotype 2 familial mediterranean fever: evaluation of 22 case series and review of the literature on phenotype 2 FMF. *Ren Fail.* 2013;35(2):226-30.
- Anonim, 2014a. www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MEFV. (15.02.2014)
- Anonim, 2014b. <http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/> (10.08.2014).
- Anonim, 2014c. <http://www.genenames.org/genefamilies/IL> (15.03.2014).
- Anonim,2014d.http://www.eurofinsgenomics.eu/media/536673/principle_fret_lcprobes.jpg.(15.03.2014).
- Anonim, 2014e. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL10> (11.03.2014).
- Apostolidou, E., Kambas, K., Chrysanthopoulou, A., Kourtzelis, I., Speletas, M., Ritis, K., Mitroulis, I.2012. Genetic analysis of C5a receptors in neutrophils from patients with familial Mediterranean fever. *Mol Biol Rep.*39(5):5503-10.
- Arısoy, N., Sever, L.1991. Ailevî Akdeniz Ateşi: dünya, ülkemiz ve çocuklar açısından konuya bakış. *Klinik Gelişim.*4: 930-935.
- Asghar, T., Yoshida, S., Kennedy, S. ve ark.2004. The tumor necrosis factor- α promoter -1031C polymorphism is associated with decreased risk of endometriosis in a Japanese population. *Hum Reprod.*19:2509–14.
- Ateş, Ö., Kurt, S., Altinisik, J., Karaer, H., Sezer, S.2011.Genetic variations in tumor necrosis factor alpha, interleukin-10 genes, and migraine susceptibility. *Pain Med*;12(10):1464-9.
- Ateş, Ö., Dalyan, L., Hatemi, G., Hamuryudan, V., Topal-Sarıkaya, A. 2010. Analyses of functional IL10 and TNF- α genotypes in Behçet's syndrome. *Mol Biol Rep.* 37(7):3637-41.
- Azarpira, N., Haghighi, A., Pourjafar, M., Shariat, A.2010.Interleukin 10 gene polymorphism in Iranian patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Taiwan.*19(2):107-11.
- Balci-Peynircioğlu, B., Taşkıran, Z.E., Türel, B., Arici, M., Bakkaloğlu, A., Ozen, S., Yılmaz, E. 2008. The analysis of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta gene polymorphisms in Turkish FMF patients: do they predispose to secondary amyloidosis?. *ClinExp Rheumatol*;26(4 Suppl 50):S99-102.
- Barakat, M.H., Karnik, A.M., Majeed, H.W. ve ark.1986. Familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis) in Arabs--a study of 175 patients and review of the literature. *Q J Med*;60:837-47.
- 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. *Clin Rheumatol.* ;22(2):99-101.
- Ben-Chetrit, E., Levy, M.1998. Familial Mediterranean fever *Lancet*;351:659-64.
- Ben-Chetrit, E., Lerer, I., Malamud, E., ve ark.2000. The E148Q mutation in the MEFV gene: Is it a disease-causing mutation or a sequence variant?. *Hum Mutat.*; 15: 385-6.
- Bernot, A., da Silva, C., Petit, J.L., ve ark.1998. Non-founder mutations in the MEFV gene as the cause of Familial Mediterranean Fever. *Hum Mol Genet.* 7:1317-25.

- Bidwell, J.L., Wood, N.A.P., Morse, H.R., Olomolaiye, O.O., Laundy, G.J. 1998. Human cytokine gene nucleotide sequence alignments, 1998. *Eur J Immunogenet.* 25: 83–266.
- Bidwell, J., Keen, L., Gallagher, G., Kimberly, R., Huizinga, T., McDermott, M.F., Oksenberg, J., McNicholl, J., Pociot, F., Hardt, C., Alfonso, S.D. 1999. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes and Immunity.* 1, 3–19
- Boiardi, L., Casali, B., Farnetti, E., Pipitone, N., Nicoli, D., Macchioni, P., Cimino, L., Bajocchi, Catanoso, M.G., Pattacini, L., Salvarani, C. 2006. Interleukin-10 promoter polymorphisms in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum;*54(12):4011-7.
- Borish, L.C. ve Steinke J. W. 2003. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol.* 111(2) P.461-475.
- Bonyadi, M., Bahrami, S., Jahanafrooz, Z., Dastgiri, S. 2012. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in FMF and their association with amyloidosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 18(6):633-7.
- Brik, R., Shinawi, M., Kepten, I. ve ark. 1999. Familial Mediterranean Fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics.* 103: 70.
- Castro-Santos, P., Suarez, A., López-Rivas, L., Mozo, L., Gutierrez, C. 2006. TNF- α and IL-10 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. Association of -1082 AA low producer IL-10 genotype with steroid dependency. *Am J Gastroenterol.* 101(5):1039-47.
- Cattan, D. 2005. MEFV mutation carriers and diseases other than familial Mediterranean fever: proved and nonproved associations; putative biological advantage. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 4(1):105-112.
- Cacherill, F.R. Uhl, J.R. 2001. Applications and challenges of RealTime PCR for the Clinical Microbiology Laboratory. In: Reischl U, Wittwer C, Cockerill FR, eds. *Rapid Cycle Real-Time PCR. Methods and Applications.* 1st ed. Germany: Heidelberg. p.11.
- Chaplin, B.E., Rasmussen, R.P., Bernard, P.S., Wittwer, C.T. 1999. LightCycler™ hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection. *Biochemica.* 1:5-8.
- Crawley, E., Kay, R., Sillibourne, J., Patel, P., Hutchinson, I., Woo, P. 1999. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism,* 42:6(1101–1108).
- Demirel, A., Celkan, T., Kasapcopur, O., Bilgen, H., Ozkan, A., Apak, H., Arisoy, N., Yildiz, I. 2008. Is Familial Mediterranean Fever a thrombotic disease or not?. *Eur J Pediatr.* 167(3):279-85.
- Dinarello, C., Arend, W., Sims, J., Smith, D., Blumberg, H., O'Neill, L., ve ark. 2010. IL-1 family nomenclature. *Nat Immunol* 2010;11:973.
- Drenth, J. P. H. and Van Der Meer J. W. M. 2006. The inflammasome—a linebacker of innate defense. *New England Journal of Medicine.* 355 (7) 730–732.
- Dündar, M., Kiraz, A., Balta, B., Emirogullari, E.F., Zararsiz, G., Yurci, A., Aslan, D., Baskol, M. 2013. The role of TNF- α and PAI-1 gene polymorphisms in familial Mediterranean fever. *Mod Rheumatol* 23.140–145.

- Düzova A, Bakkaloglu A, Besbas N, ve ark.2003. Role of A-SAA in monitoring subclinical inflammation and in colchicine dosage in familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol*. 21: 509- 14.
- Ece, A., Cakmak, E. , Uluca, U. ve ark. 2014. The MEFV mutations and their clinical correlations in children with familial Mediterranean fever in southeast Turkey, *Rheumatology International*, vol. 32, no. 2, pp. 207–212.
- Ehrenfeld, E., Eliakim, M., Rachmilewitz, M.1961. Recurrent polyseositis (Familial Mediterranean Fever; periodic disease). A report of fifty-five cases. *Am J Med*.31; 107- 123.
- 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):862-4.
- Gao, Q.J., Liu, D.W., Zhang, S.Y., Jia, M., Wang, L.M., Wu, L.H. 2009. Polymorphisms of somecytokines and chronichepatitis B and C virus infection. *World J Gastroenterol*. 15(44):5610-9.
- Gedalia, A., Adar, A., Gorodischer, R.1992. Familial Mediterranean fever in children. *J Rheum*.19 (Suppl):1-9.
- Gershoni-Baruch, R., Shinawi, M., Leah, K., Badarnah, K., Brik, R.2001.Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *Eur J Hum Genet*;9:3-7. Gibson, A.W., Edberg, J.C.,Wu J., Kimberly, R.P.2006. Interleukin-10: Genetic Polymorphisms and Relevance to Autoimmune Pathology”. *Interleukin-10: Chapter: Cytokines/Growth Factors*. P.9.
- Gibson, U.E., Heid, C.A., Williams, P.M.1996. A novel method for real time quantitative T-PCR. *Genome Res*. 6:995-1001.
- Girndt, M., Kaul, H., Sester, U., Ulrich, C., Sester, M., Georg, T. ve Köhler, H. 2002. Anti-inflammatory interleukin-10 genotype protects dialysis patients from cardiovascular events. *Kidney International*. 62, 949–955.
- Goldfinfer, E.S.,1984. Familial Mediterranean Fever.An Update, Departments of Medicine, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA 02114.
- Haghighat, M., Derakhshan, A., Karamifar, H.2006. Familial Mediterranean Fever. *Shiraz E Medical Journal*. 7: 1-18.
- Hashim, M., Delague, V., Chouery, E., Salem, N., Rawashdeh, M., Lefranc, G., Loiselet, J., Mégarbané, A.2004. Amyloidosis in familial Mediterranean fever patients: correlation with MEFV genotype and SAA1 and MICA polymorphisms effects. *BMC Med Genet*.10;5:4.
- Heller, H., Sohar, E. ve Sherf, L.1958. Familial Mediterranean fever. *Archives of Internal Medicine*; 102:50 .
- Huang, Y.C., Tsukamoto, K., Sharma,V.2005. Interleukin-10 promoter gene polymorphisms have no clear influence on interleukin-10 protein secretion in AIDS associated B-celllines. *Biochemical and Biophysical Res. Commun*.335: 529-535.
- Hu, X., Chen, J., Wang, L., Ivashkiv, L.B.2007. Crosstalk among Jak-STAT, Toll-likereceptor, and ITAM dependent pathways in macrophage activation. *J Leukoc Biol*.82(2):237-43.
- Hutchinson, V.,Pravica, V., Perrey, C., Sinnott, P.1999. Cytokine gene polymorphisms and relevance to forms of rejection. *Transplantation Proceedings*. 31(1)734-736.

- Janeway, T.C. ve Mosenthal, H.C. 1908. An unusual paroxysmal syndrome. Probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism. *Transactions of the Association of American Physicians*.23:504-18.
- Jeske,M., Lohse P., Kallinich, T., Berger, T., Rietschel,C., Holzinger, D., Kamlah, C., Lankisch,P., Berendes,R., Dueckers,G., Horneff, G., Lilienthal, E., Haas, J.P., Giese, A., Dressler, F., Berrang, J., Braunewell, L., Neudorf, U., Niehues, T., Föll, D., Lainka, E.2013.Genotype-phenotype and genotype-origin correlations in children with mediterranean fever in Germany - an AID-net study. *Klin Padiatr*. 225(6):325-30.
- Jobling, M.A. 2009. Surnames and genetic structure: a molecular analysis using Y-chromosomal DNA polymorphisms. The University of Leicester.
- Karahan, ZC., Ozturk, A., Akar, E., Akar, N.2005. Interleukin-6(IL-6)-174 G/C polymorphism in familial Mediterranean fever patients with and without amyloidosis. *J Nephrol*.18(5):582-4.
- Keen, L.J.2002. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transpl. Immunol*.10: 143-6.
- Kingo, K., Koks, S., Silm, H. ve Vasar, E. 2003.IL-10 promoter polymorphisms influence disease severityand course in psoriasis. *Genes and Immunity*. 4: 455–457.
- Kobak, A.C., Kobak, S., Kabasaka, Y., Akarca, U.S. 2007.Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism in patients with familial Mediterranean fever. *Clinical Rheumatology* 26(6): 908-910.
- Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., ve ark.2006. The real-time polymerase chain reaction.*Mol Aspects Med*.27:95-125
- Kuroda, H., Saijo, Y., Fujiuchi, S., Takeda, H., Ohsaki, Y., Hasebe, N. 2013. Relationship between cytokine single nucleotide polymorphisms and sarcoidosis among Japanese subjects.*Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*.30(1):36-42.
- Lidar, M., Livneh, A.2007.Familial Mediterranean Fever, *The Journal of Medicine*, 65: 9.
- 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* 40:87938.
- Livneh, A., Zemer, D., Langevitz, P. ve ark. 1994. Cholchicine treatment of AA amyloidosis of familial Mediterranean Fever. An analysis of factors affecting outcome. *Arth Rheum*.37: 1804-11.
- Lv, H., Jiang, Y., Li, J., Zhang, M., Shang, Z., Zheng, J., Wu, X., Liu, P., Zhang, R., Yu, H.2014.Association between polymorphisms in the promoter region of interleukin-10 and susceptibility to inflammatory bowel disease.*Mol Biol Rep*. 41(3):1299-310.
- Male, D., Cooke, A., Owen, M.,ve ark.1996. *Advanced Immunology*,St Louis, C.V. Mosby.
- Majeed, H.A., Barakat, M.1989.Familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis) in children: analysis of 88 cases. *Eur J Pediatr*. 148: 633-641.
- Manukyan, G.P., Ghazaryan, K.A., Ktsoyan, Z.A., Tatyán, M.V., Khachatryan, Z.A., Hakobyan, G.S., Mkrtchyan, V.A., Kelly, D., Coutts, A., Aminov, R.I.2008. Cytokine profile of Armenian patients with Familial Mediterranean fever. *Clin Biochem*.41(10-11):920-2.
- Marincola F. 2006. Interleukin-10. *Medical Intelligence Unit*..Chapter 3B.pp.65-69.

- Mariathasan, S.2007. ASC, Ipaf and Cryopyrin/Nalp3: bona fide intracellular adapters of the caspase-1 inflammasome. *Microbes Infect* 9: 664–671.
- Marmaralı A. 1946. Garip bir karın ağrısı sendromu. *Türk TipCemMecNo*:12.
- Mansfield, E.; Chae, J.J.; Komarow, H.D.; Brotz, T.M.; Frucht, D.M.; Aksentijevich, I.; Kastner, D.L. *Blood*, 2001, 98, 851
- McDermott, M. F.2004. A common pathway in periodic fever syndromes. *Trends in Immunology* 25-9.
- Melikoğlu, M., Özdoğan, H., Korkmaz, C., Kasapçopur, Ö., Arısoy,N., Akkus,S., Fresko, İ., Yazıcı, H.2000. A survey of phenotype II in Familial Mediterranean Fever. *Ann Rheum Dis.*; 59(11): 910–913.
- Migita, K, Agematsu, K., Yazaki, M., Nonaka, F., Nakamura, A., Toma, T., Kishida, D., Uehara, R., Nakamura, Y, Jiuchi Y, Masumoto J, Furukawa H, Ida H, Terai C,Nakashima, Y, Kawakami A, Nakamura, T., Eguchi, K., Yasunami, M., Yachie, A. 2014. Familial mediterranean Fever: genotype-phenotype correlations in Japanese patients.*Medicine (Baltimore)*.93(3):158-64.
- Mohebbatikaljahi, H., Menevse, S., Yetkin, I., Demirci, H.2009.Study of interleukin-10 promoter region polymorphisms (-1082A/G, -819T/C and -592A/C) in type 1 diabetes mellitus in Turkish population. *J Genet.* 88(2):245-8.
- Mok, C.C., Lanchbury, J.S., Chan, D.W., Lau, C.S.1998. Interleukin-10 promoter polymorphisms in Southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 41(6):1090-5.
- Nakamura, T., Migita, K., Ando, Y., Takaoka, H., Suzushima, H., Shiraishi, N.2014. Amyloid A amyloidosis in a Japanese patient with familial Mediterranean fever associated with homozygosity for the pyrin variant M694I/M694I. *Mod Rheumatol.* 24(2):349-52
- Nedwin, G.E., Naylor, S.L., Sakaguchi, A.Y. ve ark.1985.Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomallocalization. *Nucleic Acids Res*;13:6361–73.
- Negoro, K., Kinouchi, Y., Hiwatashi, N. ve ark.1999.Crohn’s disease is associated with novel polymorphisms in the 59-flanking regionof the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology*; 117:1062–1068.
- Olgun, A., Akman, S., Kurt, I., Tuzun, A., Kutluay, T.2005.MEFV mutations in familial Mediterranean fever: association of M694V homozygosity with arthritis.*Rheumatol Int.* 25: 255-9.
- Önen, F., Sumer, H., Turkay, S ve ark. 2004. Increased frequency of familial Mediterranean fever in Central Anatolia, Turkey. *Clin Exp Rheumatol.* 22: 31–3.
- Önen, F., 2006. Familial Mediterranean Fever, *Rhumatol.* 26: 489-496 p.
- Özbey, U., Tug, E., Namli, M..2009. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in patients with schizophrenia in a region of East Turkey. *World J Biol Psychiatry*, 10(4 Pt 2):461-8.
- Özen, S., Karaaslan, Y., Ozdemir, O. ve ark.1998. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol.* 25: 2445–9.
- Özen, S..1999.New interest in an old disease, Familial Mediterranean Fever. *Clin Experimental Rheum*; 17: 745-9.
- Özen, S.ve Bilginer, Y. 2014. A clinical guide to autoinflammatory diseases: familial Mediterranean fever and next-of-kin *Nat. Rev. Rheumatol.* 10, 135–147.

- Papin, S., Cuenin, S., Agostini, L., Martinon, F., Werner, S., Beer, H.D., Grütter, C., Grütter, M. and Tschopp, J., 2007. The SPRY domain of Pyrin, mutated in familial Mediterranean fever patients, interacts with inflammasome components and inhibits proIL-1 β processing. *Cell Death and Differentiation*. 14:1457.
- Pawson, T. and Nash, P. 2000. Protein-protein interactions define specificity in signal transduction. *Genes & Development*. 14(9):1027–1047.
- Pigossi, S.C., Alvim-Pereira, F., Montes, C.C., Finoti, L.S., Secolin, R., Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R.M. 2012. “Genetic association study between Interleukin 10 gene and dental implant loss” *Arch Oral Biol*. Sep;57(9):1256-63
- Poole, K.L., Gibbs, P.J., Evans, P.R., Sadek, S.A., Howell, W.M. 2001. Influence of patient and donor cytokine genotypes on renal allograft rejection: evidence from a single centre study. *Transpl Immunol*. 8: 259–265.
- Pras, E., Aksentijevich, I., Gruberg, L., et al. 1992. Mapping of a gene causing Familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med*. 326:1507-13.
- Pras, M., Bronshtigel, N., Zemer, D., Gafni, J. 1982. Variable incidence of amyloidosis in familial Mediterranean fever among different ethnic groups. *Johns Hopkins Med J* 150: 22–6.
- Qin, S.Y., Jiang, H.X., Lu, D.H., Zhou, Y. 2013. Association of interleukin-10 polymorphisms with risk of irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. Dec 28;19(48):9472-80.
- Qin, B., Wang, J., Liang, Y., Yang, Z., Zhong, R. 2013. The Association between TNF- α , IL-10 Gene Polymorphisms and Primary Sjogren’s Syndrome: A Meta-Analysis and Systemic Review. *PLoS One*. 8(5):e63401.
- Rahim, S.S., Khan, N., Boddupalli, C.S., Hasnain, S.E., Mukhopadhyay, S. 2005. Interleukin-10 (IL-10) mediated suppression of IL-12 production in RAW 264.7 cells also involves c-rel transcription factor. *Immunology*. 114:313–321.
- Rahbar Kafshboran, H., Bonyadi, M., Miri, H., Haghi, M., Nikraves, A., Abdolmohammadi, R., Hossein Somi, M., Khoshbaten, M. 2014. Association of TNF- α -857 Polymorphism with Inflammatory Bowel Disease in a Group of Iranian Azeri Individuals. *Middle East J Dig Dis*. 6(1):28-31.
- Richards, N., Schaner, P., Diaz, A., Stuckey, J., Shelden, E., Wadhwa, A., Gumucio, D.L. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 39320.
- Rigante, D., La Torraca I., Avallone, L. A., Pugliese, L., Gaspari, S., Stabile, A. 2006. The pharmacologic basis of treatment with colchicine in children with familial Mediterranean fever, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, vol.10, no. 4, pp. 173–178.
- Roh, J.W., Kim, M.H., Seo, S.S., Kim, S.H., Kim, J.W., Park, N.H., Song, Y.S., Park, S.Y., Kang, S.B., Lee, H.P. 2002. Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women. *Cancer Lett*. 184: 57-63
- Ross, R. 1999. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am. Heart J*. 138:419- 420.
- Russo, C., Polosa, R. 2005. TNF- α as a promising therapeutic target in chronic asthma: a lesson from rheumatoid arthritis. *Clinical Science* 109, 135-142.
- Rüstemoğlu, A., Gümüş-Akay, G., Yiğit, S., Taşlıyurt, T. 2011. Analysis of common MDR1 (ABCB1) gene C1236T and C3435T polymorphisms in Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Genet Mol Res*. 10(4):3411-20.

- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*;239(4839):487–491
- Sarkisian, T., Emerit, I., Arutyunyan, R., Levy, A., Cernjavski, L., Filipe, P.1997. Familial Mediterranean fever: clastogenic plasma factors correlated with increased O₂(-)-production by neutrophils. *Hum Genet* 101:238–24
- Schwartz, J. 1960. Periodic peritonitis, onset simultaneously with menstruation. *Ann Intern Med*;53:407-11.
- Siegal, S., 1945. Benign paroxymal peritonitis : *Ann Intern Med* 23:1-21
- Schaner, P.E., Gumucio, D.L. 2005. Familial Mediterranean Fever in the Post-Genomic Era: How an Ancient Disease is Providing New Insights into Inflammatory Pathways *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*;4(1):67-76.
- Sethi, G., Sung, B., Aggarwal, B.B. 2008. TNF: A master switch for inflammation to cancer .*Frontiers in Bioscience* 5094-5107.
- Sinclair, B. 2000. The Divine Cytokine. *The Scientist;Magazine;Technology Profile*. <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/12778/title/The-Divine-Cytokine/> (22.05.2014)
- Sofian, M., Kalantar, E., Aghakhani, A., Hosseini, S., Banifazl, M., Eslamifar, A., Jourabchi, A., Farazi, A.A., Ramezani, A. 2013. No correlation between interleukin-10 gene promoter polymorphisms and hepatitis B virus infection outcome. *Hepat Mon*.19;13(5):e8803.
- Sohar, E., Gafni, J., Pras, M., Heller, H. 1967. Familial Mediterranean fever : A survey of 470 cases and review of the literature. *The American Journal of Medicine*; 43(2):227-253.
- SmithK. 2002. Genetic Polymorphism and SNPs. http://www.cs.mcgill.ca/~kaleigh/compbio/snp/snp_summary.html (02.08.2014)
- Srinivasula, S.M., Poyet, J.L., Razmara, M., ve ark.2001. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem*. 277:21119-21122.
- Summers, A.M., Summers, C.W., Drucker, D.B., Hajeer, A.H., Barson, A., Hutchinson IV. 2000. Association of IL-10 genotype with sudden infant death syndrome. *Hum Immunol*; 61: 1270–1273.
- Şahin, Ş., Özyurt, H., Şaylan, O., Benli, İ.,Aydoğan L., Yıldırım, B., Yılmaz, R. 2009. Tokat Bölgesinde FMF Hastalığında MEFV Geninde Sık Görülen Mutasyonlar. *Türk Klinik Biyokimya Derg*; 7(3): 81-86.
- Şimşek, İ., Pay, S., Pekel, A., Dinc, A., Musabak, U., Erdem, H., Sengul, A. 2007. Serum proinflammatory cytokines directing T helper 1 polarization in patients with familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int*.27(9):807-11
- Tang, B., Chen, Y.K., Luo, W.J., Fu, J., Sun, J.M. 2014. Association between interleukin-10 -1082A/G, -819C/T and -592C/A polymorphisms with deep venous thrombosis. *Hum Immunol*.75(3):203-7.
- Tekin, M., Yalçinkaya, F., Tümer, N., Akar, N., Misirlioğlu, M., Cakar, N.2000. Clinical, laboratory and Molecular characteristics of children with Familial Mediterranean Fever-associated vasculitis. *Acta Paediatr*. 89(2):177-182.
- The French FMF Consortium. 1996. Localization of the Familial Mediterranean Fever Gene (FMF) to a250-kb Interval in Non-Ashkenazi Jewish Founder Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet*. 59. 603-612 p.

- The International FMF consortium: Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell* 1997; 90: 797-807 7.
- Thomas, K.P., 1975, Genetic factors in amiloidosis, *Journal of Medical Genetics*, 12, 317p.
- Tunca, M., Akar, S., Onen, F., ve ark.2005. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 84:1-11.
- Turner, D.M., Williams, D.M., Sankaran, D., Lazarus, M., Sinnott, P.J., Hutchinson, I. V.1997.An Investigation Of Polymorphism In The Interleukin-10 Gene Promoter. *European Journal of Immunogenetics*. 24:8 (1-8).
- Turkish FMF Study Group. 2005. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey. *Medicine*, 84,1 p.
- Tyagi, S., Kramer, F.R. Molecular beacons: Probes that fluoresce upon hybridization. *Nat Biotechnol* 1996;14:303-8.
- Van Heel, DA., Udalova, I.A., De Silva, A.P., ve ark.2002. Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF-kB transcription factors.*Hum Mol Genet*.11:1281-9.
- Verweij, C.L. 1999. Tumour necrosis factor gene polymorphisms as severity markers in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol. 58, supplement 1, pp. I20-I26.
- Wang, L. ve ark.2002. PYPAF7, a novel PYRIN-containing Apaf1-like protein that regulates activation of NF-kB and caspase-1-dependent cytokine processing. *J. Biol. Chem.* 277;29874-29880.
- Wang, S., Huang, D., Sun, S., Ma, W., Zhen, Q.2011. Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis B to interferon alfa. *Virol J.* 8:28.
- Yalçınkaya, F., Tekin, M., Çakar, N. ve ark.2000. Familial Mediterranean fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients. *QJM*. 93: 681-4.
- Yepiskoposyan, L., Harutyunyan, A.2007.Population genetics of familial Mediterranean fever: a review. *Eur J Hum Genet*. 15: 911-6.
- Yılmaz, E., Özen, S., Balcı, B., Düzova, A., Topaloğlu, R., Beşbaş, N., Saatçi, Ü., Bakkaloğlu, A. Ve Özgüç, M. 2001. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *European Journal of Human Genetics* 9:553-5.
- Yılmaz, E., B. Balcı, S. Kutlay, S. Özen, S. Ertürk, A. Öner, N. Beşbaş and A. Bakkaloğlu.2003.Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF-alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. *Turk J Pediatr*, 45(3); 198-202.
- Yigit, S., Tural, S., Tekcan, A., Tasliyurt, T., Inanir, A., Uzunkaya, S., Kismali, G. 2014.The role of IL-4 gene 70 bp VNTR and ACE gene I/D variants in Familial Mediterranean fever. *Cytokine*. 67(1):1-6
- Zammiti, W., Mtiraoui, N., Cochery-Nouvellon, E., Mahjoub, T., Almawi, W.Y., Gris, J.C. 2006. Association of -592C/A, -819C/T and -1082A/G interleukin-10 promoter polymorphisms with idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Mol Hum Reprod*. 12(12):771-6

Zhou, J., Tao, L., Zhang, D., Chen, B., Tang, W.J., Lu, L.M. 2014. Association of IL-10 promoter polymorphism and plasma levels with susceptibility to vocal cords leukoplakia. *Zhonghua Er Bi Yan HouTouJingWai Ke ZaZhi* 48(12):1017-21.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Gülşen (BOZTEPE) GÜÇLÜ
Doğum Tarihi ve Yeri : 13.09.1985-Sivas
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 05449619767
e-mail : gulsenboztepe58@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	GOÜ- Biyoloji ABD-Moleküler Biyoloji ve Genetik	2014
Yüksek Lisans	GOÜ- Biyoloji ABD-Moleküler Biyoloji ve Genetik	2010
Lisans	GOÜ-Fen Edebiyat- Biyoloji	2008
Lise	Cumhuriyet Anadolu Lisesi	2003

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
2010-...	Tunceli Üniversitesi- Tunceli MYO	Öğretim Görevlisi