



**T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA HIGH MOBILITY GROUP BOX 1
PROTEİNİNİN İNFLAMASYON BELİRTECİ OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Betül ÖZTÜRK

**Ankara
2016**



**T. C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA HIGH MOBILITY GROUP BOX 1
PROTEİNİNİN İNFLAMASYON BELİRTECİ OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Betül ÖZTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Esra BASKIN**

ANKARA/2016

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir

Proje No: KA15/350

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakóltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki eğitim hayatım sırasında asistanı olarak çalışmaktan onur ve gurur duyduğum, tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübesi ile bana her konuda destek olan ve yönlendiren değerli hocam Dr. Esra Baskın 'a,

Uzmanlık eğitimim sırasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren çok değerli hocalarıma,

Asistanlık sürecini keyifli hale getiren zorlukların yanı sıra güzellikleri de paylaştığımız sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, sevgilerini ve desteklerini hep hissettiğim, her şeyimi borçlu olduğum, çok sevdiğim annem Şenel Özaydın, babam Ali Özaydın ve kardeşim Kürşat Özaydın'a,

Her anımı; huzurlu ve mutlu hale getiren, destekleyen, yol gösteren, hayatımı anlamlandıran sevgili eşim Alper Öztürk'e,

Ve tabi ki bu yolda en büyük fedakarlığı yapan biricik kızıma, İpek'ime

En içten duygularla sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Öztürk B. Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında High Mobility Group Box 1 Proteininin İnflamasyon Belirteci Olarak Değerlendirilmesi. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Ankara 2016

Giriş ve Amaç; Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) sıklıkla ateş, periton, plevra, sinovium ve nadir de olsa perikart inflamasyonu ile giden otoinflamatuvar bir hastalıktır. Son yıllarda AAA hastalarında atak olmayan dönemlerde de inflamasyonun devam ettiğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Son yıllarda inflamasyon ile ilgili elde edilen yeni bilgilerde DAMPs olarak adlandırılan proteinlerin hücre zedelenmesi durumunda hücre dışına çıkarak inflamatuvar yanıtta aldığı görev ve kronik inflamatuvar hastalıklardaki önemi ortaya konmuştur. Hasar ilişkili moleküler patern (DAMPs) olarak adlandırılan bu proteinler gün içerisinde fizyolojik faaliyetleri gerçekleştirirken hücre zedelenmesi gibi durumlarda hücre dışına geçerek güçlü bir inflamasyon yanıtı oluşmasında görev almaktadırlar. Biz bu çalışmada son yıllarda özellikle kronik inflamatuvar hastalıklarda üzerinde çok sayıda çalışma bulunan ve birçok hastalıkta tanısallık ve prognostik önemi kanıtlanmış bir DAMPs molekülü olan HMGB1'in AAA hastalığındaki rolünü ortaya çıkarmayı amaçladık.

Hastalar ve Yöntem; Ocak-Kasım 2016 tarihleri arasında Hastanemiz Çocuk Nefrolojisi bölümünde takip edilmekte olan 60 AAA hastası çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak 60 sağlıklı çocuk alındı. Hastaların ve ailelerinin demografik verileri ve genetik sonuçları kayıt edildi, hasta ve gönüllü sağlıklı bireylerden HMGB1 analizi için kan örneği alındı. Hasta grubundan CRP, Sedimentasyon, tam kan sayımı, fibrinojen, kreatin kinaz, AST, ALT, kreatinin ve idrar örneklerinde mikroalbümin değerleri de çalışıldı.

Bulgular; Çalışmaya AAA hastası olan 57 çocuk (27 kız / 32 erkek) ile sağlıklı 60 (30 kız / 30 Erkek) çocuk dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerin ortanca yaşı 123 (min-maks; 20-220) aydı. AAA hastalarının 33'ünde (%57,9) aile hikayesi varken 6'sında ise (%10,5) ise ailede akraba evliliği mevcuttu. Hasta grubunun %65'i batı Karadeniz ile batı ve orta Anadolu kökenliydi. Hastalarımızın AAA tanısıyla ortanca takip süresi 5 (min-maks 1-12) yıldır. Hastalarımızda en sık görülen mutasyon M694V idi (%78). Tüm hastalar kolşisin tedavisi alıyordu ve ortanca kolşisin düzeyi 1mg/gün'dü (0.5-1.5). Kontrol grubu ile AAA hastalarının yaş, cinsiyet ve vücut ağırlığı benzer bulundu. AAA hastalarında HMGB1 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha yüksekti (p=0.001). AAA hastalarında HMGB1 düzeyi diğer kan parametreleri ile karşılaştırıldığında Nötrofil / Lenfosit oranı ve RDW ile HMGB1

arasında anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi (Sırasıyla; $r=0.350$, $r=0.285$, $p<0.05$). Hastaların HMGB1 düzeyi ile mutasyonları arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamadı. Atak ve atak dışı dönemdeki hastaların HMGB1 düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu.

Sonuç; Çalışmamız AAA hastalarında serum HMGB1 düzeyinin sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde yüksek bulunduğunu ve HMGB1'in atak ve ataksız dönemde benzer olduğunu, kolşisin dozundan etkilenmediğini göstermektedir. Bu sonuçlar AAA hastalarında subklinik inflamasyonun devam ettiğini düşündürmektedir. Bu konuda daha fazla hasta sayısı içeren daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.



ABSTRACT

Öztürk B. Evaluation of High Mobility Group Box 1 Protein as an Inflammation Marker in Patients with Familial Mediterranean Fever. Başkent University Faculty of Medicine Department of Pediatrics, Thesis. Ankara 2016

Introduction and Objectives: Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autoinflammatory disease that commonly presents with fever, peritonitis, pleuritis, synovitis, and less commonly with pericarditis. Several recent studies reported ongoing inflammation in the attack-free period of patients with FMF. Other studies revealed that some proteins show an inflammatory response after translocation to an extracellular environment through cellular damage. These proteins are known as Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs); they carry out daily physiological cell functions and induce a strong inflammatory response after translocation to an extracellular area after cell damage has occurred. High mobility group box protein (HMGB1) is a frequently-investigated DAMPs molecule, with a strong diagnostic and prognostic role for several chronic inflammatory diseases. Our aim was to discover HMGB1's role in FMF.

Patients and Method: Sixty consecutive patients with FMF that were followed in the Pediatric Nephrology department of our institute were included in this study. Sixty healthy children were also included as the control group. Demographic data of patients and their parents, including the patients' genetic analyses, and demographic data of controls were recorded. Blood samples were obtained from patients and controls for HMGB1 analysis. Laboratory analysis of patients included CRP, sedimentation, blood count, fibrinogen, creatine kinase, AST, ALT, creatinine, and microalbumin/creatinine from urine samples were recorded as well.

Findings: Fifty-seven patients with FMF (27 female / 32 male) and 60 healthy children (30 female / 30 male) were included in this study. The median age of patients and healthy controls was 123 months (min-max: 20-220). Thirty-three patients (57.9%) in the FMF group had a history of disease in their family, while there were consanguineous marriages in 6 of the patients' parents (10.5%). Furthermore, 65% of patients came from the west Blacksea region and west-middle Anatolian region. The median follow-up of patients with FMF diagnosis was 5 years (min-max: 1-12 years). The most frequent patient mutation was M694V (78%). All patients were on colchicine treatment, with the median dose being 1 mg/day (min-max: 0.5 mg-1.5 mg). Age, sex, and body weight were similar among both patients and controls.

Patients' HMGB1 levels were significantly higher when compared to controls ($p = 0.001$). There was a significant positive correlation between HMGB1 and red cell distribution width (RDW), including neutrophil to lymphocyte ratio. No significant relation was observed between patient mutations and HMGB1 and HMGB1 levels were similar during both the attack and the attack-free period of patients.

Conclusion: This study demonstrated that HMGB1 levels in patients with FMF are significantly higher compared to healthy controls, while these levels are not influenced by the period of the disease. Our study finds that subclinical inflammation persists in patients with FMF in the attack-free period. Further comprehensive studies, with a greater number of patients, are necessary to thoroughly examine this issue.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iv
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Prevelans ve Demografik Özellikler.....	3
2.1.4. Patogenez	4
2.1.5. Genetik Özellikler.....	8
2.1.6. Klinik	9
2.1.7 Laboratuvar Bulguları.....	14
2.1.8 Tanı	14
2.1.9 AAA'da Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi.....	17
2.1.10 Ayırıcı Tanı.....	19
2.1.11 Tedavi	20
2.2 Damage Associated Molecular Patterns (Damps)	22
2.2.1 Genel Bilgiler.....	22
2.2.2 High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB 1)	24
2.3 AAA ve HMGB1	38
2.3.1 AAA.....	38
2.3.2. HMGB1.....	38
2.4 Hipotezler	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1 Olgular	42
3.2 Örneklerin Toplanması	43
3.3 HMGB1 Analizi	43

3.4 İstatistiksel Analizler	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR.....	58



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Tel-Hashomer Tanı Kriterleri

Tablo 2. Livneh ve ark Tanı Kriterleri

Tablo 3. Yalçinkaya ve ark Tanı Kriterleri

Tablo 4. Çocuklar için Modifiye edilmiş Pras skorlaması

Tablo 5. AAA Ayırıcı Tanıları

Tablo 6. TLR ailesi tarafından DAMPS ve PAMPS moleküllerinin tanınması

Tablo 7. Hasta ailelerinin bölgelere göre dağılımı

Tablo 8. Hasta grubunun MEFV gen mutasyonları

Tablo 9. Gruplar arasındaki demografik özellikler ve HMGB1 sonuçları

Tablo 10. AAA'lı hastaların demografik ve laboratuvar bulgularının HMGB1 ile korelasyonu

Tablo 11. Hasta mutasyon gruplarına göre HMGB1 analizi

Tablo 12. Hastaların atak durumuna göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Pirin proteinin moleküler yapısı

Şekil 2. Pirin ve inflamazom ile ilişkili moleküller

Şekil 3. HMGB1'in temel aminoasit yapısı

Şekil 4. HMGB1'in Redoks Durumuna Göre Fonksiyonları

Şekil 5. HMGB1 salınımı ve post-translasyonel modifikasyonu

Şekil 6: İnflamazom aktivasyonunda etkili faktörler

Şekil 7: Aktive olmuş immün hücreden HMGB1 salınımı

Şekil 8. Pirin, ASC ve DAMPS ilişkisi

KISALTMALAR

- AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi
BÜTF: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
PAMPs: Patojen İlişkili Moleküler Paternler (Patogen Associated Molecular Patterns)
DAMPs: Hasar İlişkili Moleküler Paternler (Damage Associated Molecular Patterns)
HMGB1: High Mobility Group Box 1
ASC: Apoptosis Associated Speck Like Protein
CARD: Caspase Recruitment Domain
FMF: Familial Mediterranean Fever
TNF: Tumor Nekrozis Faktör
LPS: Lipopolisakkarit
IFN: İnterferon
IL-1 β : İnterlökin 1 β
PSTPIP1: Proline Serine Threonine Phosphatase interacting protein 1
LPS: Lipopolisakkarit
MEFV: Mediterranean Fever
EKG: Elektrokardiyografi
EMG: Elektromiyografi
NSAID: Non-Steroid Anti İnflamatuar Drugs
HSP: Henoch-Schönlein Pururası
PAN: Poliartteritis Nodosa
TLR 2: Toll Like Receptor 2
PRR: Pattern Recognizing Receptor
CK: Kreatinin kimaz
CRP: C-reaktif protein
ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı
PAN: Poliarteritis Nodosa
PMA: Forbol Miristat Asetat
SAA: Serum Amiloid A
NLRP3: NOD like receptor containing protein 3
AST: Aspartat aminotransferaz
ALT: Alanin aminotransferaz

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) sıklıkla ateşin eşlik ettiği, periton, plevra, sinovium ve nadir de olsa perikardın tutulduğu serozit ataklarıyla karakterize, özellikle Musevi, Arap, Ermeni ve Türk toplumlarında yaygın olarak görülen, otozomal resesif geçişli otoinflamatuvar bir hastalıktır (1,2). Hastalığa ait semptomlar genellikle yaşamın ilk 20 yılında ortaya çıkmakta ve yaşam boyu devam etmektedir. Atakların periyodik ve kendini sınırlayıcı olması en önemli karakteristik özelliğidir (1,2).

AAA'da tanı; klinik özellikler, aile öyküsü, kolşisin tedavisine yanıt ve diğer ailesel periyodik ateş sendromlarının ekarte edilmesi ile konulur. Hastalığın tanısı esas klinik özelliklere göre konur. Genetik inceleme tanıyı desteklemek amacıyla kullanılır.

MEFV (MEditerranean FeVer) genindeki mutasyonlar, AAA vakalarının çoğunda hastalığın sebebi olarak görülmektedir. (3,4). MEFV fibroblast ve dendritik hücreler gibi yapısal hücrelerde ve dolaşımda bulunan nötrofil ve monosit gibi myeloid kökenli hücrelerde ekspresse edilmektedir (5). MEFV geni pirin ya da Latince marenostriin olarak adlandırılan bir protein üretir (3,4).

AAA atağı sırasında akut faz reaktanları genellikle yükselir fakat klinik remisyonda normale dönerler (6). Fakat bazı hastalarda akut faz reaktanları ataklar arasındaki intervallerde yüksek kalmaktadır (7,8). Bu durum ataksız dönemlerde subklinik inflamasyonun devam ettiğini düşündürmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar AAA'de semptom olmayan dönemde de subklinik inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir (9). Eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein, serum amiloid A, beyaz küre sayısı, fibrinojen gibi akut faz reaktanları atak sırasında yükselmekte fakat semptomsuz dönemde normale dönmektedir (7,10). Ama AAA'nın en önemli komplikasyonundan biri olan amiloidoz, subklinik enfeksiyonu devam eden semptomsuz hastalarda da gelişebilmektedir (11,12). Birçok çalışma AAA hastalarındaki subklinik inflamasyonu göstermeye yönelik yeni bir belirteç bulmayı amaçlamaktadır. Çünkü subklinik inflamasyon; anemi, splenomegali, azalmış kemik mineral dansitesi, kalp hastalığı ve özellikle fatal seyrebilen amiloidoz gelişimi açısından yüksek risktir (13,14).

Vücudumuz patojenlerin moleküler motiflerinin tanınması için bazı mekanizmalar geliştirmiştir ve bunlara 'patojen ilişkili moleküler patern' (PAMPs) adı verilmiştir (15). Fakat

'stranger theory' olarak adlandırılan bu durum; iskemik zedelenme, travma, tümör, organ transplantasyonu, otoimmün hastalıklar gibi steril şartlarda oluşan güçlü immün cevabı açıklayamamaktadır. Polly Matzinger PAMPs teorisinin simetrisi olarak, zedelenmiş dokudan salınan hücre içi moleküllerinzedelenme ilişkili moleküler paternlerin (DAMPs; Damage Associated Molecular Patterns) devreye girdiği 'Danger Theory'i önermiştir (16). DAMPs molekülü gün içerisinde hücre içerisinde fizyolojik işleri olan moleküllerdir ve hücre dışına çıktıklarında hücre zedelenmesinin sinyali olarak değişik işlevleri bulunmaktadır. Hücre içi veya hücre dışı lokalizasyonları kritik öneme sahiptir. Hücre içinde günlük işlerini yaparken immün sistem tarafından görünmezdirler fakat hücre dışına çıktıklarında tanınır hale gelirler (17). Birçok DAMPs molekülü bulunmaktadır. Nükleer DNA bağlayıcı molekül olan HMGB1 (High Mobility Group Box 1 Protein) bir DAMPs prototipidir (18).

HMGB1 temel olarak tüm hücre tiplerinden salınabilir ama DAMPs gibi davranabilmesi için hücre dışı ortama taşınmış olmalıdır. HMGB1; nekrotik, apoptotik hücrelerden artmış permeabilite ile pasif salınırken, stresse maruz kalmış hücreler, monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerden aktif olarak sekrete edilirler ve inflamatuvar reaksiyonu artırır (18). HMGB1 sinyalleri; RAGE, TLR2, TLR4 reseptörlerini kullanarak inflamatuvar hücrelerde TNF α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olur (19,20).

HMGB1; Sistemik Lupus Eritematozis, Romatoid Artrit, İnflamatuvar Myozit gibi birçok otoimmün hastalıkla ilişkili bulunmuştur (21,22). Bu hastalıklarda serumda, sinoviyal sıvıda ve deri lezyonlarında ekstrasellüler ortamda HMGB1 artmış olarak bulunmuştur (21,22).Buda bize otoimmün hastalıklarda anlamlı olarak artmış bulunan HMGB1 in yine bir otoinflamatuvar bir hastalık olan AAA'daki subklinik inflamasyonu göstermede yardımcı olabileceğini düşündürmüştür.

Günümüzde AAA hastalarında ataksız dönemdeki inflamatuvar süreci gösteren yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; güncel literatürde yaygın olarak araştırılan ve proinflamatuvar bir sitokin olan HMGB1'in; AAA hastalığının atak ve remisyon döneminde inflamasyon belirteci olarak kullanılıp kullanılmayacağını göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi

2.1.1. Tanım

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) ; Akdeniz kökenli toplumlarda sık görülen, tekrarlayan ve kendi kendini sınırlayan ateş ile birlikte karın ağrısı, plörit, artrit, erizipel benzeri deri lezyonları ve zamanla amiloidoz gelişimi ile karakterize otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır (23,24).

AAA hastalarının yaklaşık %90'ında klinik bulgular 20 yaşından önce ortaya çıkar (12,13,25). Başlangıç yaşı ortalama 4 yaştır ve bu özelliği nedeniyle aslında bir çocukluk çağı hastalığıdır (14).

2.1.2. Tarihçe

AAA Türkler, Yahudiler, Araplar ve Ermeniler'de sık olarak görülür (1-3). İlk AAA olguları bu etnik gruplarda tanımlandı. Dünya literatüründe ilk kez 1908 yılında Janeway ve Mosental tekrarlayan ateş, abdominal ağrı ve lökositozu olan 16 yaşında Yahudi bir kız hasta yayınlamışlardır (15). İlk olgudan sonra 1945 yılında Amerikalı araştırmacı Siegal, 'Bening Paroksimal Peritonit' adıyla tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları ile seyreden klinik bir antite tanımlamıştır (26). Mamau ve kattan tarafından 1951'de genetik geçiş ve amiloidozla ilişkisi gösterilmiştir (27). İsraili araştırmacı Heller ve Sohar 1958 yılında ilk kez Ailevi Akdeniz Ateşi tanımı kullanmışlar ve 1961 yılında yine aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermiştir (28). Türkiye'de ise ilk Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı 'Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu' adı ile 1946 yılında Abrevaya Marmaralı tarafından bir erişkinde tanımlanmıştır (14).

2.1.3. Prevelans ve Demografik Özellikler

Hastalık özellikle Doğu Akdeniz havzasında yaşayan halklarda artmış sıklıkta görülmektedir. Ailesel Akdeniz ateşi en sık Sefardik Yahudiler'de, Ermeniler'de, Araplar'da ve Türkler'de ortaya çıkar. Son zamanlarda hastalık daha iyi tanımlandıkça İtalyanlar'da, Yunanlılar'da ve İspanyollar'da da AAA'lı olgular bildirilmeye başlanmıştır (1,2,3).

Hastalığın Türklerdeki yaygınlığı 1/1075 ve Orta Anadolu'daki yaygınlığı ise 1/395 olarak bulunmuştur (29). Türkiye'nin belirli bölgelerinden köken alan kişilerde hastalığa daha fazla rastlanmaktadır. İsmindeki Akdeniz tanımlamasının aksine AAA daha çok İç Anadolu,

Batı Karadeniz, Doğu Karadeniz iç kesimleri, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da görülmektedir. Akraba evliliğinin daha fazla olduğu bölgelerde hastalığın ortaya çıkma riski artmaktadır (12). Hastalığın görülme oranı kadın ve erkek cinsiyette benzer oranlarda olmakla birlikte bazı çalışmalarda erkeklerde daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (18).

2.1.4. Patogenez

AAA'nın patogenezi ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur. 1976 yılında AAA'nın katekolamin metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklanabileceği hipotezi ortaya atılmıştır. Hayashi ve arkadaşları, tekrarlayan peritonit atakları olan bir hastanın ataklarının reserpin ile baskılandığını ve noradrenalin infüzyonu ile uyarıldığını göstermiş ve hastalığın patogenezinde katekolamin metabolizmasına dikkat çekmiştir (30).

1984 yılında Matzner ve arkadaşları AAA'lı hastaların periton ve sinoviyal sıvılarında, kompleman aktivasyonu sırasında oluşan ve önemli bir inflamatuvar aracı olan C5a inhibitörünün eksikliğini göstermişlerdir. C5a inhibitörünün eksik olması nedeni ile inflamatuvar yanıtın yetersiz baskılandığı ve nötrofil kemotaksisinin inhibe edilemediği düşünülmüştür (31).

Shohat ve arkadaşları 1989 yılında lipokortin eksikliği temeline dayanan olası patogenetik bir mekanizma bildirmişlerdir. Shohat'ın patogenetik mekanizmasına göre, AAA'lı hastalarda lipokortin eksikliğine bağlı olarak fosfolipaz A2 baskılanamamakta, dolayısıyla araşidonik asit ve diğer inflamatuvar mediatörlerin salınımı artmakta, ve inflamasyon tetiklenmektedir. Bu mekanizmayla AAA'nın neden steroide yanıt vermediği de açıklanabilmektedir (33).

Hastalığın patogenezi açıklamada tüm bu hipotezler tek başına yetersiz kalmış ve patogenezi ile ilgili çalışmalar sürerken, 1992 yılında hastalıktan sorumlu genin 16. kromozomun kısa kolunda olduğu gösterilmiş ve daha sonraları bu gen klonlanmış ve 1997 yılında MEFV (Mediterranean FeVer) geni olarak adlandırılmıştır. Bu gen 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde 10 ekzondan oluşan, 15 kilobazlık bir gen bölgesidir ve 781 aminoasitlik bir proteini kodlamaktadır (1-3).

MEFV geninin ürünü olan proteine Fransız grubu "Mare nostrum"(Bizim deniz), diğer grup ise "Pirin" (Ateş) ismini vermiştir. Pirin özellikle nötrofillerde bulunan ve nötrofil aktivasyonunu baskılayan düzenleyici bir proteindir. MEFV genindeki mutasyon sonucunda gelişen pirin disfonksiyonunun AAA etyopatogenezinde önemli olduğu savunulmaktadır.

Kemik iliği ve perifer kan lökosit ekspresyon analizi sonucu, MEFV dominant olarak AAA'da nötrofil, eozinofil ve monositlerde ifade edilmekte, lenfositlerde ise bulunmamaktadır (32). MEFV ayrıca dendritik hücrelerde ve sinovyal fibroblastlarda da ifade edilmektedir (33). Monositlerde ise MEFV ifade düzeyi değişken olup proinflamatuvar ajanlar olan interferon (IFN) γ , tümör nekrozis faktör (TNF), lipopolisakkarit (LPS) ile ifade artmaktadır. Ayrıca sinoviyumda, peritonda ve ciltte bulunan fibroblastlarda da MEFV gen ekspresyonu görülmekte olup nötrofillere göre daha düşük seviyededir ve IL-1 β ile ekspresyon artmaktadır (34). Bu durum AAA'daki serozal, sinovyal ve cilt inflamasyonuna yatkınlığı açıklamaktadır.

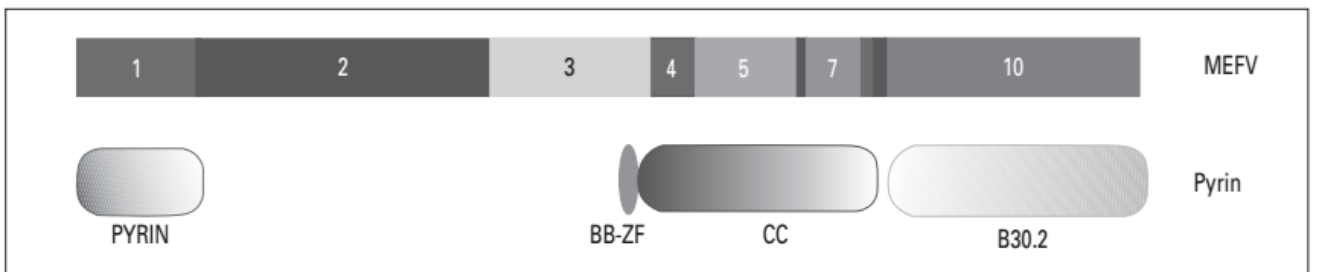
AAA hastalığının patogenezinde; mutant MEFV gen ürünü olan pirin'in fonksiyon bozukluğu olduğu belirtilmiştir (35).

2.1.4.1 Pirin Proteini

Pirin proteini, beş fonksiyonel bölge içermektedir (35) (Şekil 1).

1. Amino (N) ucu PİRİN domaini (PAD, PyD veya DAPIN olarak da isimlendirilir)
2. bZIP (transcription factor basic domain)
3. α -helical (Coiled coil) domain
4. B-box zinc finger domain (BB-ZF)
5. Karboksi (C) ucu B30.2 domain (PRYSPRY)

Şekil 1. Pirin proteinin moleküler yapısı



Pirin proteini, nükleer lokalizasyon sinyali de içermektedir. Bu sinyal dizisinin varlığı proteinin çekirdekte lokalize olduğunu ve bir transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon gördüğü

görüşünü düşündürmüştür. Ancak yapılan çalışmalar, pirinin monositlerde sitoplazmada, sinovyal fibroblastlar ve nötrofillerde ise çekirdekte lokalize olduğunu göstermiştir [35]. Bu bulgular, pirinin bulunduğu hücreye göre farklı proteinlerle etkileşime girerek, farklı fonksiyonları üstlenebileceğini göstermektedir. Pirin proteininin inflamasyonda direkt veya indirekt bir “down regulator” işlevi olduğu düşünülmektedir [36].

2.1.4.2. Pirin proteini ile ilişkili peptidler

Proteinin hücre düzeyindeki fonksiyonuna ışık tutmak amacıyla yapılan maya-2-hibrid sistemi çalışmalarında, pirin proteini ile ilişkili bazı proteinler saptanmıştır (Şekil 2). Bunlardan birincisi ASC (apoptosis-associated speck like protein with a CARD) [23], ikincisi PSTPIP1 [proline serine threonine phosphatase interacting protein 1/CD2BP1 (CD2 binding protein 1)] [24], üçüncüsü ise Siva proteinidir [37].

A- “Apoptosis-associated speck like protein with a CARD (ASC)”

ASC; ilk olarak apopitotik hücrelerde “speck” şeklinde ifade edilen agregatların oluşumuna sebep olan protein olarak tanımlanmıştır. “Speck” oluşturan hücrelerin %100’ü apopitotik programı tamamlamaktadır [37]. ASC yapısal olarak, 195 aminoasitten oluşan, amino ucunda pirin domaini [PyD], karboksi ucunda “caspase recruitment domain (CARD)”i içeren bir proteindir. Hücre düzeyinde incelendiğinde, in vivo ve in transfekto modellerde, ASC hem sitoplazma hem de çekirdekte eksprese olmaktadır. ASC’nin kendi üzerine asosiasyonu ile oluşturduğu “speck” olarak ifade edilen büyük sitozolik agregatların içeriği henüz aydınlatılabilmemiş değildir [38]. ASC’nin, PyD domaini sayesinde, diğer PyD içeren proteinlerle (örneğin; cryopirin, PYPAF7, DEFCAP proteinleri gibi) protein-protein etkileşimine katıldığı gösterilmiştir. CARD domaini ise ASC’nin, fonksiyonel aktivitesinde önemli olduğu bilinen domainidir [39]. ASC; üç önemli hücresel işlemde;

1. Apopitoz,
2. IL-1 β ’nın işlenmesi ve salgılanması ile ilişkili prokaspaz-1’in oluşturulması ve aktivasyonu,
3. İnflamatuvar cevabın başlaması ve yayılmasında görevli bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B aktivasyonunda rol oynamaktadır [37].

ASC, prokaspaz-1’e (IL-1 β “converting” enzim) bağlanarak onun agregasyonunu ve otoaktivasyonunu sağlamaktadır. Aktif kaspaz-1, pro-IL-1 β ’yı IL-1 β ’ya çevirmekte ve salgılanan IL-1, kendi reseptörüne bağlanarak inflamasyonu başlatmaktadır. Pirin proteini fonksiyonel olduğu zaman, ASC’ye bağlanarak, ASC-prokaspaz-1 ilişkisini engellediği ve bu

sayede IL-1 işlenmesini baskılayarak antiinflamatuvar bir molekül olarak görev yaptığı düşünülmektedir (40).

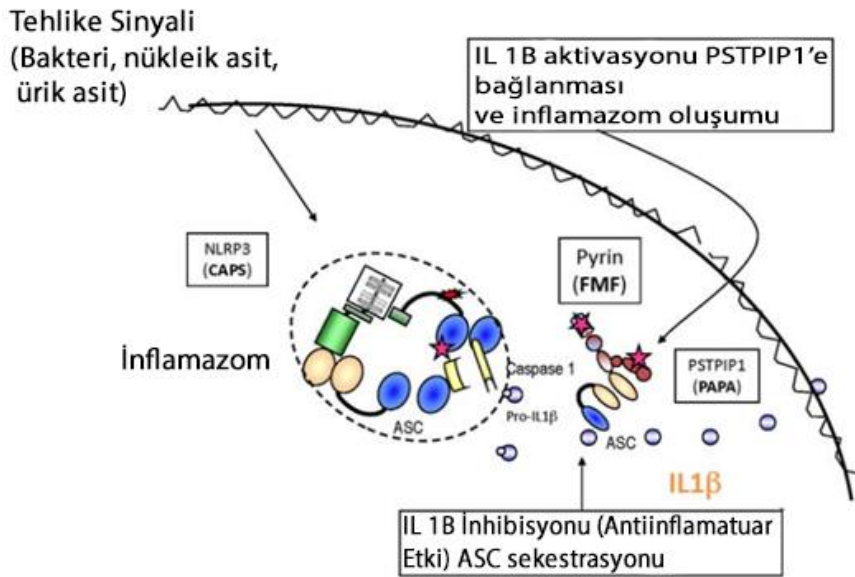
B- “Proline serine threonine phosphatase interacting protein 1 (PSTPIP1)”

PSTPIP1’i kodlayan gende meydana gelen mutasyonlar PAPA (pyogenic arthritis with pyoderma gangrenosum and acne) sendromuna sebep olmaktadır [41]. PAPA sendromu, otozomal dominant geçiş gösteren ve bazı klinik özellikleri açısından AAA’ya benzeyen bir otoinflamatuvar hastalıktır. PAPA sendromu olan kişilerde, AAA’da olduğu gibi, eklemlerde nötrofilden zengin efüzyonlar gelişmektedir [42]. Bu ortak fenotip, PSTPIP1 ve pirinin, önemli bir inflamatuvar yolda birlikte çalışabileceğini ve PSTPIP1’e bağlı biyokimyasal yolların AAA ile ortak olabileceğini düşündürmektedir [38].

C- Siva

Siva geni iki farklı transkripsiyon ürününü kodlamaktadır. Siva 1 ve Siva 2 proteini [43]. Siva primer olarak lenfositlerde ve timus, prostat, testis, yumurtalıklar, ince bağırsakta [44] ayrıca, monosit ve nötrofillerde (yayınlanmamış data) eksprese olmaktadır. Siva 1 ve Siva 2 proteinleri ile ilgili çalışmalarda, her iki proteinin de proapoptotik özellikleri ortaya konmuştur [43]. Siva 1 ve Siva 2’nin, pirinin yoğun olarak eksprese olduğu hücrelerde eksprese olduğu gösterilmiş, bu da proteinlerin birbirlerine bağlanmaları ve bu hücrelerde birlikte görev almalarını destekleyici bir sonuç olmuştur.

Şekil 2. Pirin ve inflamazom ile ilişkili moleküller



2.1.5. Genetik Özellikler

AAA'da hastalar arasında farklı klinik özelliklerin olması ve hastalığın değişik şiddette seyretmesi, MEFV geninin klonlanması ve birçok mutasyonun saptanması, fenotip-genotip korelasyonu kurulmasına yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur.

Bu mutasyonlar sonucunda çeşitli nedenlerle uyarılan iltihabi reaksiyonlar durdurulamamakta ve ateş ile birlikte, periton, plevra, eklemler ve deri gibi belirli bölgelere sınırlı enflamasyon ataklarıyla karakterize klinik tablo ortaya çıkmaktadır.

AAA ilişkili mutasyonların çoğu missense mutasyonlar (yanlış anlamlı, aminoasit değişimi) olup az bir kısmında tek aminoasit duplikasyon/delesyon mutasyonları bildirilmiştir (35,45). Oluşan mutasyonlar sonucunda aminoasit dizisinde değişiklik olur ve proteinin yapısı ve fonksiyonu değişir (45). Hastalığa yol açan mutasyonların büyük çoğunluğu pirin proteininin B30.2 bölgesini kodlayan bölgede bulunmaktadır (46). 2012 itibariyle MEFV geninde 246 değişik mutasyon tanımlanmıştır. Bu 246 değişiklikten 79 tanesi ekzon 2'de, 73 tanesi ekzon 10 üzerinde bulunmaktadır (47). Bu iki ekzonda yer alan M680I, M694V, M694I, V726A mutasyonları ve E148Q varyantı AAA hastalarındaki mutasyonların %74'ünü oluşturmaktadır (48-50).

Ülkemizden yayınlanan birçok çalışmada Türklere en sık M694V mutasyonunun görüldüğü bildirilmektedir. Akar ve arkadaşları AAA tanısı ile izledikleri 230 hastada 7 farklı mutasyonla ilgili araştırmalarında (M694V, M680I, V726A, M694I, E148Q, R761H, K695R) mutasyonları sıklık sırasına göre M694V (%44), M680I (%12), V726A (%11), M694I (%3) olarak bildirmişlerdir (51).

Çeşitli etnik gruplardaki AAA hastalarında yapılan ilk çalışmalarda M694V homozigot mutasyonunun olmasının yüksek amiloidoz riski taşıdığı belirtilmiştir. M694V homozigot mutasyonunun bulunması, Ermenilerde ve Yahudilerde hastalığın şiddetli gidişi ile ilişkili olduğu bildirilmesine karşılık Türklere'de benzer ilişki gösterilememiştir (52,53). Buna karşın Yalçinkaya ve arkadaşlarının Türklere yaptığı bir çalışmada M694V yanında tüm mutasyonlarda amiloidoz geliştiği bildirilmiştir (24).

Sonuç olarak, amiloidoz bazı mutasyonları taşıyan AAA hastalarında daha sık görülmektedir ancak amiloidozun tüm mutasyonlarda görülme ihtimali vardır. Günümüzde ağırlıklı olarak amiloidoz gelişiminin genetik olarak belirlendiği düşünülmektedir. Şu an için

bilmediğimiz çevresel faktörler ve/veya genetik değişikliklerin saptanması amiloidoz gelişimi ve hastalığın fenotipik varyasyonlarını açıklamak için gerekli görünmektedir.

Bugünkü durum moleküler tanı açısından fazla tatminkar değildir. Çünkü klinik olarak kesin AAA olan hastaların MEFV geni mutasyonları bakımından sadece %70'i homozigot veya bileşik heterozigottur. Geri kalanı heterozigottur veya teşhis edilebilir bir mutasyon yoktur. Öte yandan bazı etkilenmemiş bireylerde mutasyon vardır. Öyleyse MEFV geninde mutasyon saptanması klinik bulguları AAA ile uyumlu olan hastada klinik tanıya yardım eden bir araçtır.

2.1.6. Klinik

Hastalığın ilk belirtileri genellikle çocukluk döneminde başlar. Hastaların %90'ında şikayetler 20 yaş altında kendini gösterir. Her iki cinste benzer oranlarda görülmektedir (7) Erkek: Kadın oranı 1,5:2'dir (54).

AAA hastaları klinik olarak üç fenotipe ayrılır.

Fenotip 1; sıklıkla çocukluk veya ergenlik çağında başlayan peritonit, sinovit veya plöritin kısa süreli febril epizodları ile karakterizedir.

Fenotip 2 ise kendini başlıca nefropati ile gösteren AA amiloidoz tablosu olarak tanımlanabilir (23,52,55). Bu konu tartışmalı olmakla beraber aşağıdaki 3 kriterden birinin olması hastaya fenotip 2 tanısını koydurabilir.

1. Ailesinde AAA hastalığı hikayesi olan bir kimsede, AAA veya sekonder amiloidoz oluşturabilecek bir hastalık olmamasına rağmen biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidoz olması,

2. Biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidoz saptandıktan sonra klasik AAA ataklarının ortaya çıkması,

3. Biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidoza ek olarak hastada MEFV gen mutasyonu saptanmasıdır.

Fenotip 3 ise; hastada AAA kliniği olmamasına rağmen MEFV gen mutasyonunun bulunmasıdır.

AAA'nın klasik klinik tablosu karakteristiktir, çoğu vakalarda tanı için laboratuvar ve genetik desteğe ihtiyaç yoktur (56,57). Hastalık başlıca, karın, göğüs, eklemleri tutan ağrılı ve

ateşli nöbetlerle karakterizedir. Akut epizotlar arasında hastalar genellikle asemptomatiktir ve rutin laboratuvar testleri normaldir (23,55). Etkilenen bölgeye bakılmaksızın atakların genel özellikleri çok benzerdir; semptomların hızla oluşması, kısa süresi (6 saat-4 gün), yüksek ateş (>380C), dayanılmaz ağrı, spontan remisyon ve tam düzelme olması karakteristiktir. Ataklar düzensiz aralıklarla ortaya çıkar (23,55,57).

Ataklar sıklıkla 12-72 saat sürer. Bu süre artrit ve miyaljide daha uzundur. Ataklar, mensturasyon, fiziksel aktivite, cerrahi, enfeksiyon ve emosyonel streslerle tetiklenebilmektedir. Ataklardaki belirti ve bulgular kişiler arasında ve ataktan атаға farklılık gösterir. Ataklar arasında kişi asemptomatiktir. Yaş ilerledikçe atak sıklığı azalır, ileri yaştaki hastalarda daha hafif seyir bildirilmiştir (58).

Ateş

Ateş her atak sırasında görülen ve tanı için gerekli kabul edilen bir bulgudur. Çok nadir olmakla birlikte bazı vakalarda ateş olmayabilir (59,60,61). Atak sırasında hastanın ateşi 38-40 °C arasında değişebilir. Ateş atak boyunca devam eder ve ortalama 12-72 saat kadar sürebilir. Genelde ateşe diğer bulgular eşlik eder, fakat nadiren yalnız ateşle de görülebilmektedir (6,54,60,62).

Karın Ağrısı

Karın ağrısı AAA'lı hastalarda ateşten sonra en sık görülen ikinci semptomdur. Hastaların %95'inde mevcuttur, %50'sinde ise ilk semptom olarak ortaya çıkar. Karın ağrısına yol açan aseptik serozittir. Ağrı, sıklıkla bir kadrandan başlar daha sonra tüm karına yayılır. Karın ağrısının şiddeti, hafif bir ağrıdan, jeneralize peritonit tablosuna kadar değişebilir. Peritoneal inflamasyon peristaltizmi yavaşlatır ve hastalar sıklıkla kabızlıktan yakınır, buna karşılık çocuklarda konstipasyon değil de ishal sık görülür (61). Atak 1- 3 gün sürer ve sonrasında kendiliğinden düzelir (59,63).

AAA hastalarında ataklar dışında karın ağrısının diğer nedenleri; kolşisin etkisi, gastrointestinal amiloidoz, inflamatuvar barsak hastalıkları, vaskülit (64). AAA tedavisinde kullanılan kolşisinin kendisi de (%10-20) ishal ve karın ağrısına neden olabilir. AAA'daki tekrarlayan karın ağrısı ataklarının diğer durumlardan ayırıcı tanısının yapılması gerekir (Tablo 5) (61). Burada önemli olan AAA'daki karın ağrısı 24-72 saatte düzelir ama diğer hastalık durumlarında olan karın ağrılarının çoğunda bu süre daha da uzundur.

Göğüs Ağrısı

Ataklar sırasında plevra tutulumu Yahudi, Arap hastaların %40'ında, Ermenilerin %50'sinde, Türk hastalarının %4,9-31,2'unda görüldüğü bildirilmiştir (6,65,66,67,68). Plörezi genelde tek taraflı olup soluk alıp verme ağrılıdır. Normal karın ağrısı ataklarından farklı olarak plörit atakları 7 güne kadar uzayabilir, ataklar sırasında nadiren akciğer grafisinde plevral efüzyon tespit edilebilir (6). Bazı çalışmalarda plöritin daha ağır seyirli hastalıkla ilişkili olduğu ve amiloidoz gelişimi için risk oluşturabileceği gösterilmiştir (69). MEFV gen incelemelerinde de M694V homozigot olan hastalarda, diğer mutasyonlara göre daha sık plevra tutulumu bildirilmiştir (70).

Plörit atağı geçiren bir hastada tanısız zorluklardan biri perikardiyal bir atak olup olmadığını teşhis etmektir. Perikardiyal etkilenme nadiren görülür ve genellikle spesifik bir belirti yoktur veya çok azdır. Retrosternal ağrı, Elektrokardiyografi (EKG)'de ST elevasyonu, ekokardiyografide perikardiyal efüzyona dair kanıtlar veya göğüs radyografisinde kalp gölgesinde geçici genişleme görülebilir. Ataklar 1-3 gün içerisinde kendiliğinden kaybolur. Çok nadiren perikardiyal tamponad veya restriktif perikardit görülebilir. Perikardit, AAA'lı hastaların %0,5'inde bildirilmiştir (6,56,65).

Artrit/Artralji

Artrit atakları, AAA'nın önemli bir özelliğidir ve % 40-70 oranında görülür. Klasik olarak, gezici olmayan, eklemlerde tahribat yapmayan, eklemleri asimetric olarak tutan mono veya oligoartiküler artrit tarzında ortaya çıkar. Akut eklem romatizmasındaki benzer gezici poliartrit vakaları da bildirilmiştir Kural olarak büyük eklemler tutulur. En sık tutulan eklemler, alt ekstremite eklemleridir. Fakat hemen hemen her eklem tutulabilir (6,71). Artrit hastaların %50'sinden fazlasında 10 yaşın altında başlar (71)

AAA'da 3 tip artrit görülmektedir; Asimetric, non-destruktif artrit (%75), sakroileit de dahil olmak üzere kronik destruktif artrit (%2-5), akut romatizmal ateşe benzer migratuar (gezici) artrit (72). En sık karşılaşılan formu asimetric, non-destruktif artrit, çoğunlukla alt ekstremiteye yerleşen bir veya iki eklemi tutan, sekel bırakmayan, gezici olmayan, hasara yol açmayan akut bir monoartrit şeklindedir. En sık etkilenen eklemler diz, ayak bileği ve el bileğidir. Tutulan eklem şiş ve kızarıklık görünümündedir. Ayak bileğindeki artritlerin %50'sinde ayak sırtında eritem gözlenir. Eklem rahatsızlığı, şişlik ve ısı artışı olmaksızın şiddetli eklem ağrısının görülmesi şeklinde artritsiz artralji olarak da görülebilir.

Atak sıklığı değişken olup, genellikle birkaç gün veya 1-2 hafta içinde kendiliğinden kaybolur ancak AAA hastalarının %5'inde diğer tüm sistemik bulgular ortadan kalktığı halde eklem bulgularının gerilemediği aylarca hatta yıllarca gibi uzun bir süre devam ettiği kronik artrit görülebildiği bildirilmiştir (72,73). Uzamış vakaların bazılarında eklem hasarı oluşur ve kalıcı deformiteye sebep olabilir (48).

MEFV gen incelemelerinde de M694V homozigot olan hastalarda, diğer mutasyonlara göre daha sık artrit görüldüğü belirtilmiştir (70).

Miyalji

AAA hastalarında miyalji atakları çoğunlukla el ve ayakları etkiler ve artrit ile birlikte görülebilir. Türklerde AAA hastalarında miyalji sıklığı %11,5- 39,6 olarak bildirilmiştir (65,66). Mevcut miyalji; spontan miyalji (%8), egzersiz ile tetiklenen miyalji (%81) ve uzamış febril miyalji (%11) olarak farklı 3 formda gözlenebilir (88,89). İlk kez 1994 yılında febril miyalji sendromu tanımlanmıştır (74). Bu sendrom periton irritasyonu olmaksızın karın ağrısı, ateş, miyalji, yüksek sedimentasyon (ESR) oranı, lökositoz ve hiperglobulünemi ile kendini gösterir. Kreatin fosfokinaz, elektromiyografi (EMG) ve kas biyopsisi normaldir (61). Sıklıkla M694V homozigot hastalarda saptanmaktadır. Altı haftayı bulan, kolşisine ve nonsteroid antiinflatuvar ilaçlara (NSAID) yanıt vermeyen, steroide yanıtı iyi olan miyaljidir. Egzersizle tetiklenen miyaljiye ateş eşlik etmez, dinlenme ile düzelen ayak ve baldır ağrısı ön plandadır (61).

Cilt Bulguları

Erizipel benzeri eritem, AAA için tipik olan yegâne döküntüdür ve sıklığı %3-46'dır (6,75). Lezyon genellikle tek taraflı, bacağın ön yüzünde, ayak bileğinde veya ayak sırtında pembe-mor renkli, ciltten hafif kabarık, keskin sınırlı, sıcak ve hassas bir cilt bölgesi olarak ortaya çıkar. Lezyonun bulunduğu cilt bölgesi gergin ve ödemli olabilir, üzerinde ısı artışı görülmeyebilir. Genellikle geniş bir sahayı etkileyen eritem 2-3 gün içinde kendiliğinden geçer (6,57).

Vaskülit

AAA'nın seyri sırasında vaskülit görülebilmektedir. AAA'da en sık görülen vaskülit Henoch-Schönlein purpurasıdır (HSP) (65). Buradaki ilginç olan noktalardan birisi HSP geçiren hastalar iyi sorgulandıklarında birçoğunda AAA olduğu ortaya çıkmaktadır. Normal

popülasyona göre AAA'da artmış sıklıkta görülen diğer bir vaskülit tablosu ise poliarteritis nodosadır (PAN). AAA ile birlikte olan PAN'ın da başlangıç yaşı klasik PAN'a göre daha erken ve de genel olarak seyirlerinin daha iyi olduğu bildirilmiştir (76). Bu nedenle çocukluk ve gençlik çağlarında ortaya çıkan PAN'da AAA mutlaka sorgulanmalıdır (77).

AAA ve Behçet hastalarının birlikte görüldüklerine dair de yayınlar vardır (78). Yine bildirilen yayınlarda AAA ile birlikte Behçet hastalığı görülme sıklığı, normal popülasyondaki Behçet hastalığı görülme sıklığına göre 40 kat yüksek olduğu belirtilmektedir (79). Türkiye'de ise AAA ve Behçet birlikteliği %0,5 olarak bildirilmiştir (65).

Amiloidoz

AAA hastaların hayatlarını tehdit eden en önemli komplikasyon renal amiloidozdur. Amiloid tipi AA tipinde sekonder şeklidir. Tedavide kolşisin kullanımından önce 40 yaşının üzerindeki AAA hastalarında amiloidoz görülme oranı %75 olarak bildirilmiş ancak kolşisin kullanılmaya başlandıktan sonra, amiloidoz gelişme riski %5'e kadar gerilemiştir (54,80). Ailede amiloidoz, AAA öyküsü bulunması, erkek cinsiyet ve akraba evliliğinin olması, hastalığın erken yaşta başlaması, tanıda gecikme durumunda amiloidoz gelişme riskinin arttığı bildirilmiştir (81-83). Yine amiloidoz gelişen AAA hastalarında, amiloidoz gelişmeyen gruba göre göğüs ağrısı, artrit, erizipel benzeri eritemin daha sık görüldüğü bildirilmektedir (69). Amiloidoz en sık homozigot M694V mutasyonunda ortaya çıktığı bildirilmiştir ancak çevresel faktörler ve/veya modifiye genlerin de SAA1, SAA2, Toll Like Receptor 2 (TLR2) ve Major Histocompatibility complex class 1 chain related gen A (MICA) amiloidoz gelişiminden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (84-86). Yine birçok çalışmada belirtildiği üzere penetransı düşük olarak bildirilen E148Q varyantını homozigot olarak taşıyanlarda amiloidozun gelişmediği, M694V ile birleşik heterozigot (M694V/E148Q) taşıyanlarda amiloidoz görüldüğü belirtilmiştir (60). M694V mutasyonu dışında düşük penetransa sahip olduğu düşünülen V726A mutasyonunun, E148Q ile kompaund heterozigot, kompleks homozigot olarak taşıyan hastalarda da (E148Q/V726A, V726AE148Q/V726A-E148Q) amiloidoz geliştiği bildirilmiştir (84,87,88). Bu çalışmalar E148Q'nın benign bir polimorfizmden daha çok hastalıkla ilişkili olduğunu düşündürmüştür

Diğer semptom ve bulgular

Skrotal atak nadir görülen, tunika vaginalis testis'in enflamasyonu sonucu oluşan, sıklıkla tek taraflı, etkilenen bölgede ateş, hassasiyet ve kızarıklığın izlendiği, birkaç saatle 4

güne kadar sürüp takibinde kendiliğinden düzelen atak şeklidir (89). Ultrason (USG) ve Doppler USG ile diğer patolojiler (testis torsiyonu, orşit gibi) ekarte edilebilir.

Mollaret menenjit tarzında tekrarlayan aseptik menenjit, krizlere eşlik eden ağır başağrıları, EEG değişiklikleri, gözde kolloid cisimler, splenomegali, daha seyrek olarak hepatomegali ve lenfadenomegali bulunabilir. Hasta çocuklarda gelişmenin yavaşlaması, zayıflama, nörotik durum ve çeşitli psikolojik bozukluklar görülebilir.

2.1.7 Laboratuvar Bulguları

AAA tanısı için spesifik bir laboratuvar testi yoktur. Akut inflamasyonla giden olaylarda arttığı bilinen akut faz proteinleri (CRP, fibrinojen, seruloplazmin, haptoglobülin, serum amiloid A proteini, eritrosit sedimentasyon hızı, beyaz küre sayısı) atak sırasında yükselir ve atak sonrasında normale döner (75).

Atak sırasında geçici albüminüri ve hematüri olabilmekte, devam eden proteinüri varlığında ise amiloidoz akla gelmelidir. Hastanın mutlaka atak döneminde ve ataksız dönemde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Son dönemde yapılan çalışmalar AAA hastalarında akut faz reaktanlarının sadece atak sırasında değil, ataksız dönemde ve asemptomatik AAA taşıyıcılarında da yükseldiği gösterilmiştir (8). Bu sonuç AAA hastalarında subklinik bir inflamasyonun sürdüğünü yorumunu gündeme getirmiştir.

2.1.8 Tanı

Klinik Tanı

AAA'da tanı; klinik özellikler, aile öyküsü, kolşisin tedavisine yanıt ve diğer ailesel periyodik ateş sendromlarının dışlanması ile konulabilmektedir. Bu amaçla Tel-Hashomer, Livneh ve Yalçınkaya'nın önerdiği AAA tanı kriterleri kullanılabilir (Tablo 1-2-3) (90-92).

Tablo 1. Tel-Hashomer Tanı Kriterleri

Major Kriterler:

1. Peritonit, sinovit veya plöritin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları
2. Predispoze hastalık olmadan AA tipi amiloidoz olması
3. Kolşisin tedavisine iyi yanıt

Minör Kriterler:

1. Tekrarlayan ateş atakları

2. Erizipel benzeri eritemin varlığı
3. Birinci derece akrabalarda AAA öyküsü

Kesin tanı: 2 majör veya 1 majör +2 minör kriter

Muhtemel tanı: 1 majör + 1 minör kriter

Tablo 2. Livneh ve ark Tanı Kriterleri

Major kriterler:

Tipik ataklar (≥ 3 kez tekrarlayan aynı karakterde, atak süresinin 12-72 saat olması ve ateşli olması, ateşin 38°C ve üzerinde olması)

1. Yaygın peritonit
2. Plörit (tek taraflı) veya perikardit
3. Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)
4. Yalnızca ateş
5. İnkomplet abdominal ataklar

Minör kriterler:

1. İnkomplet göğüs atakları
2. İnkomplet artrit atakları
3. Egzersizle ortaya çıkan bacak ağrısı
4. Kolşisine iyi cevap

İnkomplet Ataklar:

Vücut ısısının $<38^{\circ}\text{C}$ olması

Sürenin daha uzun veya kısa olması (6 saat-1 hafta)

Abdominal atak boyunca peritoneal bulguların olmaması

Lokalize abdominal ataklar

Spesifik eklemlerin dışındaki eklemlerin tutulumu

Destekleyici Kriterler:

1. Ailesinde AAA bulunması
2. Etnik köken
3. Atakların 20 yaşından önce başlaması
4. Atağın ciddi yatak istirahat gerektirmesi
5. Atakların kendiliğinden geçmesi
6. Ataklar arası semptom olmaması

7. Geçici inflamasyonu gösteren anormal test cevabı (lökositoz, ESH, fibrinojen, SAA artışı)
8. Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri
9. Gereksiz laparotomi veya apendektomi varlığı
10. Akraba evliliği

Kesin tanı:

- 1 major kriter veya;
En az 2 minör kriter veya;
1 minör 5 destekleyici kriter veya;
1 minör ve destekleyici kriterlerden ilk 5'inden 4 tanesinin bulunması gerekir.

Tablo 3. Yalçinkaya ve ark Tanı Kriterleri

Kriterler	Tanım
Ateş	≥3 kez,6-72 saat süren aksiller >38°C ölçülen ateş atağı
Karın Ağrısı	≥3 kez,6-72 saat süren atak
Göğüs Ağrısı	≥3 kez,6-72 saat süren atak
Artrit	≥3 kez,6-72 saat süren atak, oligoartrit
AAA Aile Hikayesi	

Kesin Tanı
5 kriterden 2'sinin olması gerekmektedir.

Türkiye'de Yalçinkaya ve arkadaşlarının (92) yaptığı çalışmada MEFV mutasyonu pozitif AAA grubu hastalarla AAA kliniğini taklit eden, tekrarlayan ateş atakları olan kontrol grubu hastalar incelenmiş. AAA tanı kriterindeki karın ağrısı, göğüs ağrısı, artrit veya aksiller >38 °C ateş olan üç ve üzeri ataklar tanıda kriter olarak kabul edilmiş. AAA grubu ile AAA taklit eden grup arasında ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı, artrit ve ailede AAA hikayesi açısından anlamlı farklılık saptanmış. Bu beş kriterden en az 2 tanesinin olmasının AAA tanısı için en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu, bu nedenle de AAA klinik tanısı için bu 5 kriterden en az 2'sinin olması gerektiğini bildirmişlerdir. Literatürde en çok kullanılan tanı kriterleri Tel-Hashomer tanı kriterleridir.

Genetik Tanı

Tipik klinik tablo ile başvuran hastalarda genetik çalışma yapılması tanı için gerekli değildir. Tipik klinik bulgusu olup mutasyon saptanmayan vakalar da olabilmektedir. Tanısal problem daha çok atipik bulgularla gelen hastalarda olmaktadır. Bu durumda genetik analiz tanıya yardımcı olabilmektedir (93).

Nedeni bilinmeyen ateşli olgularda ya da etiyojisi belirlenememiş nefrotik sendromlu olgularda AAA genetik analizi önerilmektedir (94,95).

Tanıda klinik bulgular çok önemlidir. Tipik klinik bulguları olup MEFV mutasyonu tespit edilemeyen hastalarda kolşisin tedavisi başlanması ve tedaviye yanıtın izlenmesi önerilmektedir. Bu hastalarda gen mutasyonu negatif olsa da henüz tespit edilememiş olan mutasyonların varlığı göz önünde bulundurulmalı, daha çok tipik kliniğe dayanarak tanı konulmalıdır

2.1.9 AAA'da Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi

Günümüzde AAA'da hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan çocuklar içinde modifiye edilmiş skollama Pras ve arkadaşlarının tanımladığı sisteme dayandırılan skollama sistemidir (Tablo 4) (90,96).

Tablo 4. Çocuklar için Modifiye edilmiş Pras skorlaması

1. Başlangıç yaşı

<6 yaş : 4 puan

6-10 yaş arası: 3 puan

>10 yaş: 2 puan

2. Atak sıklığı

Ayda ikiden fazla atak: 3 puan

Ayda 1-2 atak: 2 puan

Ayda bir ataktan az: 1 puan

3. Eklem tutulumu

Uzamış artrit: 3 puan

Akut eklem tutulumu: 2 puan

4. Erizipel benzeri eritem

Varsa: 2 puan

5. Amiloidoz

Varsa: 3 puan

6. Atakları kontrol eden kolşisin dozu

Uygun dozdan düşük doz: 0 puan

Uygun doz; <5 yaş için 0,5 mg/gün

Uygun doz: 1 puan

5-10 yaş için 1 mg/gün

Uygun dozdan yüksek doz: 2 puan

>10 yaş için 1,5 mg/gün

Skorlama:

3-5 puan : Hafif hastalık

6-9 puan : Orta ağırlıkta hastalık

9 ve üzeri puan : Ağır hastalık

2.1.10 Ayırıcı Tanı

Birçok sistemle ilgili belirti ve bulguların olması nedeniyle birçok hastalığın ayırıcı tanıda göz önünde bulunması gerekmektedir (10). Ayırıcı tanıda çok önemli olan bir diğer nokta periyodik ateş sendromlarıdır (Tablo 5) (61,97,98).

Tablo 5. AAA Ayırıcı Tanıları	
Ateşli Karın Ağrılı Ataklar Piyelonefrit İdrar yolu infeksiyonları Kolesistit Pelvik inflamatuvar hastalık Pankreatit Behçet Hastalığı İnflamatuvar barsak hastalıkları Hiper IgD sendromu Kronik divertikulit/ apandisit	Ateşsiz Karın Ağrılı Ataklar Nefrolitiazis Kolelitiazis Peptik ülser Ovulasyon/ menstruasyon Orak hücreli anemi Abdominal epilepsi Hereditör anjioödem Porfiri Abdominal anjina
Sadece Ateşli Ataklar PFAPA HIDS Crohn hastalığı Alerjik reaksiyon Siklik nötropeni Lenfoma Malarya	Göğüs Ağrısı Atakları İnfeksiyöz plöroperikardit Otoimmün plöroperikardit Rekürren benign perikardit Rekürren pulmoner emboli Plöropnömoni
Eklem Atakları Behçet hastalığı Reiter sendromu Spondiloartropati Sarkoidoz Juvenil idiyopatik artrit Gut Menisküs yırtığı Septik artrit / Romatizmal Ateş	Skrotal Ataklar Testis torsiyonu Epididimit Orşit Behçet hastalığı

2.1.11 Tedavi

İlk kez 1972 yılında Emir Özkan ve arkadaşları 14 AAA'lı hastada düzenli kolşisin kullanımının atakları azalttığını saptamış ve İstanbul Üniversitesi Tıp Bülteni'nde yayınlamıştır (99). Ancak bu çalışma ne yazık ki uluslararası bir dergide yayınlanmadığı için dünya literatürüne geçememiştir. İlginç olarak aynı yıl Stephen Goldfinger uzun süreli kolşisin kullanımı ile AAA'lı hastalarda atakların engellendiğini göstermiştir ve bu nedenle kolşisin tedavisi denince "Goldfinger" adı hatırlanmaktadır (100). 1972 yılından beri AAA'da atakların seyrelmesini sağlayan ve daha da önemlisi hastalarda amiloidoz gelişimini önleyen kolşisin tedavisi uygulanmaktadır (52).

Kolşisin yüksek konsantrasyonda nötrofil mikrotübüllerini tespit eder ve yeni mikrotübüllere polimerizasyonu, hücre içi taşınımı, mitozu, sitokin salınımını ve kemotaksisi önler (101). Ayrıca membran üzerindeki adezyon moleküllerinin (endotel hücrelerinde E-selektin, nötrofillerde L-selektin) ifadesini azaltarak nötrofillerin hedef serozal dokulara bağlanmasını engeller (102).

Kolşisinin 5 yaş altı çocuklarda $\leq 0,5$ mg/gün, 5-10 yaş arası çocuklarda 1 mg/gün, 10 yaş üstü çocuklarda ise 1,5 mg/gün verilmesi önerilmektedir. Standart doz uygulaması ile cevap alınamayan hastalarda adım adım tercihen 0,25 mg/gün dozunda artışlarla en fazla 2 mg/gün kolşisin tedavisi verilebilmektedir. Yüksek riskli hasta gruplarında (böbrek nakli olanlar, amiloidoz gelişenler) 2 mg/günün üzerinde kolşisin tedavisine ihtiyaç duyulabilmektedir. Böbrek veya karaciğer yetmezliği olan hastalarda ise tedavinin izleminde daha dikkatli olmak gerekmektedir. Ağır böbrek yetmezliği olan ($GFR < 10$ ml/dk) hastalarda doz %50 azaltılmalıdır (103). 1,5 mg/ gün'den yüksek dozlarda tedavi gören hastalarda günlük doz ikiye bölünerek uygulanmalıdır (97,104).

Kolşisin tedavisine yanıtta genetik ve çevresel faktörlere göre değişkenlik belirtilmekle beraber kolşisinin etkinliği temel olarak 3 faktöre bağlıdır. Bunlar; tedaviye başlama anında böbrek hastalığının düzeyi, kullanılan ilaç dozu ve tedaviye başlanıldığı andaki histopatolojik bulgulardır (82, 105).

Uzun süreli günlük oral kolşisin kullanımı göreceli olarak güvenlidir. En sık görülen yan etkileri özellikle yüksek doz kullanımında görülen karın ağrısı ve ishaldir. Ayrıca nadir görülen ve ilaç dozunun azaltılması ile geri dönüşümlü olan diğer yan etkileri; deri döküntüsü, saç dökülmesi, lökopeni, trombositopeni, nöropati, miyopati, karaciğer hasarı ve sperm fonksiyonlarının zarar görmesidir (23).

AAA'da kolşisin tedavisine yanıtıslık %5-10 oranında bildirilmiş olup atakların kontrol altına alınamadığı bu vakalarda, IL-1 reseptör antagonisti (Anakinra) ve IL-1 β monoklonal antikoru (Canakinumab) gibi biyolojik ajanlar da kullanılabilir (106). Her iki ilaç da subkutan uygulanmakla birlikte Anakinra'nın her gün, Canakinumab'ın ise 8 haftada bir uygulanması gerekmektedir. Bununla beraber kolşisin, atakları ve amiloidoz gelişmesini önlemede hala en uygun tedavi seçeneğidir. Uzun dönem kullanımı güvenli olan bu ilaca alternatif bir tedavi halen geliştirilememiştir (103,107,108).



2.2 Damage Associated Molecular Patterns (Damps)

2.2.1 Genel Bilgiler

Doğal bağışıklık sistemi vücuda giren patojenlere karşı temel antimikrobiyal tepkidir (109). Tarihsel olarak immünregülasyonun tanımı; immün sistem hücrelerinin kendinden olan ve olmayanı ayırt etmesine ve yabancı invazyonda immün sistem aktivasyonunu başlatmasına dayanmaktadır (110,111). Bu klasik tanımlama mikrobiyal invazyon ile ortaya çıkan immün aktivasyonu açıklasa da doğal bağışıklık sistemini tetikleyen non-enfeksiyöz inflamatuvar hasarı (ör: iskemi, ameliyat, travma, otoimmünite) açıklamamaktadır (109).

Vücudumuz patojenlerin buldukları moleküler motiflerin tanınmasını belirlemek için mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar patojen ilişkili moleküler patern olarak adlandırılır (PAMPs: patogen associated molecular pattern) (17). Bu moleküllerin TLR gibi patern tanıma reseptörlerine (PRR: Pattern Recognizing Receptor) bağlanması immün sistemi tetiklemektedir (15) Fakat bu "Yabancı Teorisi" (stranger theory) iskemik zedelenme, travma, tümör, organ nakli ve otoimmün hastalıklar gibi steril şartlarda ortaya çıkan güçlü immün cevabı açıklayamamaktadır. PAMPs konseptinin simetrisi olarak, Polly Matzinger zedelenmiş dokulardan salınan hücre içi moleküllerin (tehlike ilişkili moleküler patern: DAMPs) "Tehlike Teorisini" (Danger Theory) önermiştir (16). DAMPsler hücre içinde fizyolojik role sahip moleküllerdir (17). DAMPsın bahsedilen fonsiyonları kazanabilmeleri için ekstrasellüler ortama çıkmaları gerekmektedir, vücudu tehlike karşısında alert eder ve inflamatuvar cevabı uyarır, son olarak da rejenerasyon sürecini başlatır (17). DAMPs molekülleri hasarlanan ya da stress altındaki dokulardan, immün sisteme doku hasarını ya da yaklaşan tehlikeyi haber vermek için salgılanmaktadır (109). Bu moleküller pasif ya da aktif olarak salınır ve hücrenin çeşitli bölgelerinde bulunmaktadır (109). En iyi bilinen yerler nükleus (HMGB1, histons, DNA), mitokondri (mitokondri transkripsiyon faktör A, DNA) ve sitozoldür (ATP, RNA) (109).

DAMPs molekülleri, doğal bağışıklık sistemindeki patern tanıma reseptörleri ile etkileşerek hücre sinyalinin aktive edebilirler (109). Bu reseptörlerin birçoğu hem PAMPs hem de DAMPs moleküllerini tanıyabilmektedir (112). PAMPs ve DAMPs molekülleri tarafından tanınan Toll-like reseptör ailesinin birçok üyesinin enfeksiyonda ya da steril durumlarda immün sistemi yönettiği gösterilmiştir (113) (Tablo 6). TLR'lerinin PAMPs moleküllerine karşı afinitesi DAMPs moleküllerine göre daha yüksektir (109). Çok düşük PAMPs konsantrasyonlarında bile immün cevap ortaya çıkarmaktadır. Ekstrasellüler ortamdaki doku

stresi ya da doku hasarına bağlı oluşan DAMPs moleküllerinin miktarı, reseptör aracılı sinyal etkileşimini başlatabilmesi için eşik değeri geçmelidir (109). TLR'lerin tüm hücrelerde eksprese edilmesi, PAMPs ve DAMPs tanınmasının sadece lökosit hücrelerinde olmadığını göstermektedir (109). Bundan başka birçok hastalıkta ardışık ya da aynı anda PAMPs ve DAMPs'ların salınması muhtemeldir (109). Örneğin enfeksiyonlar hücre ölümüne ya da doku stresine neden olabilir ve salgılanan LPS gibi PAMPs molekülleri HMGB1 gibi DAMPs moleküllerinin aktif salınımını tetikler (114,115).

Tablo 6. TLR ailesi tarafından DAMPS ve PAMPs moleküllerinin tanınması			
TLR	LOKALİZASYON	DAMP	PAMP
TLR 1	Hücre Zarı	β -defensin -3	Lipopeptit Çözünmüş Faktörler
TLR 2	Hücre Zarı	HMGB1 HMGB1 nükleozom kompleksleri (HSP 60, HSP70, HSP 96) β -defensin -3 Sümfaktan Protein A,D Eozinofil kaynaklı nörotoksin Antifosfolipit Antikor Serum Amyloid A Hyalüronik asit parçaları Biglycan, versikan	Glukopeptidler Lipoprotein/Lipopeptit Lipoteikoik Asit Zimosan Isı ile ölmüş bakteri Porinler Atipik LPSler Glikolipit Glikoinositolfosfolipid Lipofosfomannan Yapısal viral proteinler(HSV,CMV) Hemagglütinin Lipoarabinomannan
TLR 3	Endolizozom	Self-ssRNA	Viral ssRNA ve dsRNA
TLR 4	Hücre Zarı	HMGB1 HSP22, HSP 60, HSP70, HSP 96 Fibrinojen Heparan Sülfat	HSP 60 LPS viral zarf proteinleri Taxol

		Fibronektin Hyalüronik Asit β -defensin -3 Sümfaktan Protein A,D Nötrofil Elastaz Laktoferrin Antifosfolipid antikor Serum Amyloid A	
TLR 7/8	Endolizozom	Self-ssRNA Antifosfolipit Antikor	Viral ssRNA
TLR 9	Endolizozom	HMGB1 Heterokompleksi Self-DNA IgG Kromatin Kompleks	Metile olmayan CpG motifleri Hemozin

İlk olarak DAMPs'ların ölen hücrelerden pasif olarak salgılandığı belirlenmiştir (116). Ancak daha sonra sadece ölü hücrelerden köken almadığı, yaşamı tehdit eden stres altındaki hücrelerden salındığı da gösterilmiştir (109).

Birçok DAMPs molekülü bulunmaktadır. Nükleer DNA bağlayıcı molekül olan HMGB1 (High Mobility Group Box 1 Protein) bir DAMPs prototipidir (18).

2.2.2 High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB 1)

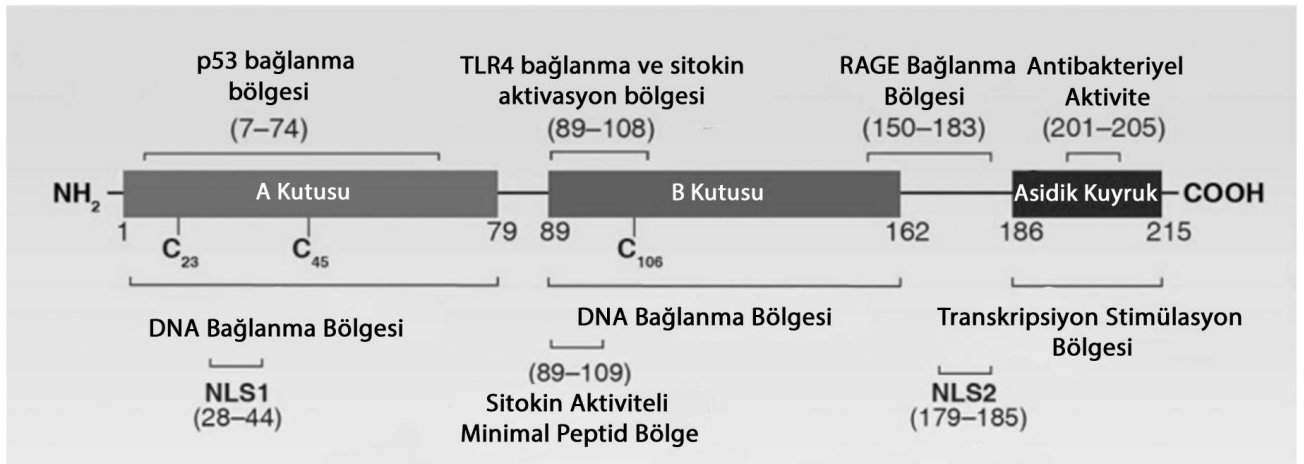
HMGB1, DNaya geçici olarak bağlanan ve geri dönüşümlü olarak DNA'nın bükülmesinde görev alan DNA şaperon proteini gibi davranan hareketli bir kromatin proteinidir (Şekil 3). Bir DNA şaperonu olarak HMGB1; nükleozom formasyonu oluşumunda, transkripsiyon, replikasyon ve DNA onarımında görev alır (117). Temel olarak tüm hücre tiplerinde bulunur fakat DAMPS gibi davranabilmesi için travmatik hücre ölümü

neticesinde pasif olarak veya hücre stresinde aktif salgılanma ile hücre dışına geçmesi gerekmektedir (116,118).

Temel Yapı

HMGB1in temel yapısı düz bir aminoasit diziliminden oluşmaktadır. 215 aminoasitten oluşan temel yapı KUTU A ve KUTU B olarak isimlendirilen iki adet DNA bağlanma bölgesi ve C-terminalindeki asidik kuyruktan oluşmaktadır (119). HMGB1 çok sayıda proteine bağlanabilir ve bu bağlantılar HMGB1in aktivasyon ve fonksiyonlarını belirler (120). 150-183 aminoasit bölgesi RAGE (Receptor for Advance Glycation Endproduct) ile bağlanma ve hücre migrasyonundan, 89-108 ve 7-74 aminoasit bölgeleri TLR4 (Toll-Like Receptor) ve p53 bağlanması ve aktivasyonu ile inflamasyon ve gen transkripsiyonundan sorumludur (120). Hücre dışında ise; KUTU B proinflamatuvar aktivitede rol oynarken, KUTU A HMGB1 antagonisti olarak davranmaktadır (121). C-terminalindeki 201-205 aminoasit bölgesi ise HMGB1in antibakteriyel aktivitesinden sorumludur (122). C-terminal kuyruk bölgesi tamamıyla asidik aminoasitlerden oluşmaktadır (Aspartat ve Glutamik Asit) (Şekil 3) (120). C terminal bölgesi nükleustan geçisi sırasında KUTU A ve KUTU B'yi korumak ve DNA'ya moleküler düzeyde bağlanmaktan sorumludur (123).

Şekil 3. HMGB1in temel aminoasit yapısı



Temel Fonksiyon

Temelde HMGB1, hücrelerin çekirdeklerinde bulunsa da sitoplazma ya da mitokondri gibi hücrenin diğer bölümleri arasında da bulunabilir veya ekstrasellüler ortama çok hızlı mobilize olabilir (109).

HMGB1'in fonksiyonu bulunduğu ortama göre değişmektedir (109).

A- Çekirdek içi HMGB1

Çekirdekte en çok non-histon DNA bağlayıcı protein olarak bulunur. İki adet DNA bağlayıcı bölümü bulunmaktadır (109). Aynı zamanda asidik kuyruğu ile de histon proteinlerine bağlanabilir (124). Çekirdekdeki lokalizasyonu her biri A ve B bölgelerinde olan iki adet lizinden zengin nükleer lokalizasyon dizisine dayanmaktadır (109). Çekirdek içinde HMGB1, DNA şaperonu gibi davranarak; DNA replikasyonunda, transkripsiyonunda, rekombinasyonunda ve onarımında görev almaktadır (125-128). B kutusu; HMGB1in bozulmuş DNA bölümlerine ya da non-B dizelerinde DNA katlanmalarını tetikleyerek yüksek affinitede bağlanmasına izin verir. Böylece nükleozomları stabilize eder ve gen ekspresyonunu düzenler (129). A kutusu da aynı zamanda bir DNA bağlama alanıdır. Saflaştırılmış A kutusu, HMGB1in proinflamatuvar hareketine ya da B kutusuna karşıdır (130). Bir mimar olarak nükleer faktör (NF) gibi HMGB1 de, Histon 1 ile yarışarak DNA ya bağlanır ve hem nükleozom yapısını rahatlatır hem de DNA'yı bükerek kromatinleri daha erişilebilir hale getirir (129,131,132). Ek olarak HMGB1 transkripsiyon kofaktörü olarak da davranmaktadır (133). HMGB1 aynı zamanda kendi DNA bölgelerine özgü p53, p57, retinoblastom proteini ya da NF-B ve östrojen reseptör gibi transkripsiyon faktörlerinin bağlanma affinitesini artırır (134-136).

HMGB1 düzensiz DNA yapılarını ve hasarlı DNA'yı bağlar ve DNA onarım yollarında görev alır. (137-139). HMGB1 yokluğunda, oksidatif stres, radyasyon ya da kemoterapiye maruz kalan hücrelerde DNA hasarı artarken DNA onarımı azalır (140). HMGB1 eksikliği aynı zamanda telomeraz aktivitesini azaltır, telomer uzunluğu artar ve kromozomal stabilite azalır (140). Nükleer HMGB1; stres altında nükleer stabiliteyi koruması ve hatta stres ilişkili genlerin ekspresyonunu regüle etmesi açısından da önemlidir (141).

B- Sitozolik HMGB1

HMGB1 sitoplazmada; hücresel fonksiyonlardan otofaji ve apoptozisi regüle eder (117,129,141). Lizozomal ilişkili otofaji stres altında hücresel devamlılığı sağlamada önemlidir (142-144). Oksijen radikallerinin ortaya çıkması, HMGB1in hücre çekirdeğinden sitoplazmaya translokasyonunu artırarak otofajiyi desteklemektedir (142). Hücre selektif HMGB1 silinerek yapılan son çalışmalar endotoksemi ve enfeksiyon durumlarında, HMGB1'in otofajik olaylardaki önemini teyit etmiştir (145). İlginç olarak HMGB1 içindeki sistein modifikasyonları ile otofaji indüksiyonu değiştirilebilir (142-144). B kutusundaki C23

ve C45 arasındaki disülfid köprülerinin formasyonu HMGB1 in Beclin 1 bağlamasında ve otofajik sürecin devamında önemlidir (146). HMGB1 aynı zamanda mitokondriyal fonksiyonların ve morfolojisinin önemli bir düzenleyicisidir ve ısı şok protein beta-1 (HSPB1 ya da HSP27) bu etkinin alt mediatörüdür. HMGB1 in seçilmiş delesyonundan dolayı embriyonik fibroblastlarda HSPB1 gen bozulması; mitokondriyal parçalanmaya , solunum fonksiyonunda ve ATP sentezinde defekte yol açar. Hücresel stres nedeniyle oluşan otofajide HMGB1 tarafından regüle edilen HSPB1 mitokondriyal sağlamlığı korur (147). Ek olarak HMGB1 aynı zamanda apoptozisi de regüle etmektedir. Okside sitoplazmik HMGB1 CASP3 ve parçalanmış DNA faktörleri ile apoptozisi destekler (143,148).

Mikrobiyal invazyon ya da non-enfeksiyöz nedenlere bağlı hücre hasarı sonrasında , nükleik asitler normalde buldukları yerlerden dışarı çıkabilirler (109). Bu nükleik asitler (dsRNA, ssRNA, kısa dsRNA ve oligodeoksinükleotid içeren hipometile CpG-motif gibi) tip 1 interferon (IFN) ve diğer proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri üreterek doğal bağışıklık yanıtının başlamasına neden olurlar (149-151). Sitozolik kompartımanlarda HMGB1 nükleik asit için sensör görevi görmektedir ve nükleik asitlere karşı oluşacak immun sistem için gereklidir (109) . Nükleik asitleri tanımak için TLR3, TR7 ve TLR9 gibi birçok sitozolik reseptör bulunmaktadır ve HMGB1 nükleik asitlerin bu reseptörler tarafından tanınmasını ve kendilerine özgü TLR ile bağlanmasını arttırmaktadır (150,151). Makrofaj ve dendritik hücrelerde HMGB1 kaybı, nükleik asitlere karşı proinflamatuvar sitokinlerin salınımını engeller (152).

C- Membran HMGB1

HMGB1in yüzey membran proteini olarak hücre zarında bulunduğu ve nöron hücrelerinin uzamasında (153), platelet aktivasyonunda (154), hücre farklılaşmasında (155), eritrosit olgunlaşmasında (156), hücre adezyonunda (157) ve doğuştan immünitede (158) rol aldığı önceki yayınlarda gösterilmiştir.

D- Hücre dışı HMGB1

Hücre strese maruz kaldığında HMGB1 hücre dışına çıkar ve çok sayıda fonksiyon görür (109). Bu streslerden birçoğu HMGB in mobilize olmasını ve etkileşimlerin ve fonksiyonlarının birbirine geçtiği hücre dışına salınımına neden olmaktadır (109). HMGB1makrofaj, monosit, hepatosit, NK hücre, dendritik hücre, endotelial hücre ve trombositler gibi birçok hücre tipinden aktif olarak sekrete edilmektedir(56,57,58)Alternatif

olarak , hücre öldüğü zaman HMGB1 ekstrasellüler ortama pasif olarak salınır ve ilgili inflamatuvar cevabı başlatır. (114,159). Her ne kadar apoptotik hücreler nekrotik hücrelerle kıyaslandığında daha az HMGB1 üretse de makrofaj içine alınan apoptotik hücre HMGB1 salınımını uyarmaktadır (160,161).

HMGB1 in hücre dışındaki fonksiyonu, hücre reseptörleri ve diğer yüzey molekülleri gibi çözülebilir moleküllerle olan etkileşimine bağlıdır. HMGB1 in etkileşime girdiği reseptörler RAGE (receptor for advanced glycation end product), TLR4, TLR2, TLR9, makrofaj antijen 1, syndecan-3, CD24-siglec-10, CXCR4, certain integrins ve TIM'dir. Bazı reseptörler için HMGB1 diğer yüzey molekülü olan koreseptörlerle etkileşmektedir. Örneğin, makrofajlarda CD14, HMGB1-TLR4 etkileşimi için gereklidir ya da endotel hücrelerinde heperan sülfat RAGE-HMGB1 bağlanması için gereklidir (109).

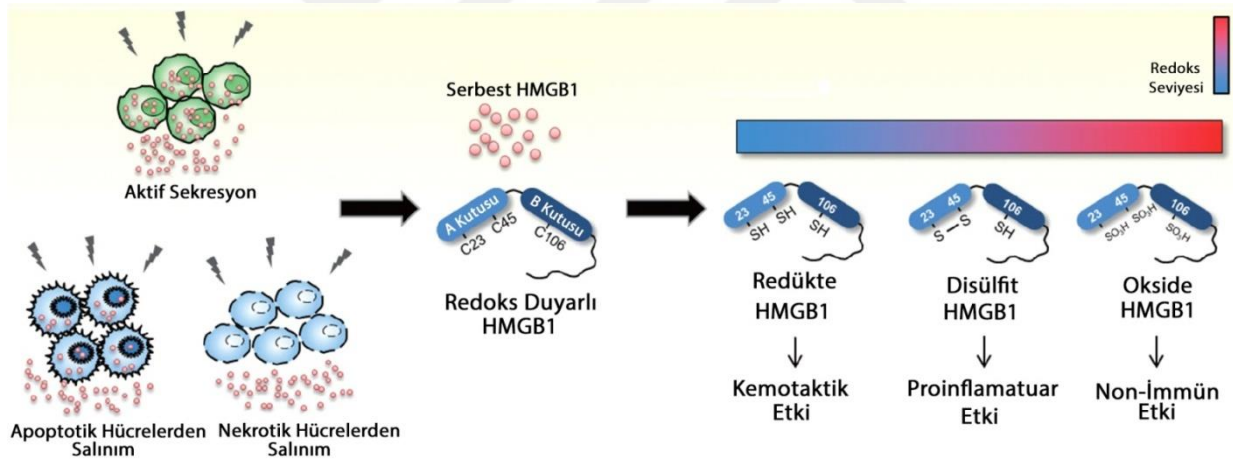
HMGB1 aynı zamanda IL-1 (C-X-X motif), ligand-12 (CXCL-12), nükleik asit, histon ya da LPS gibi diğer moleküllerle heterokompleks oluşturabilir (109). Birbirinden ayrı bu moleküller karşılaştırıldığında sinerjistik cevaplarının olduğu gözlemlenmiştir. (114,162) Örneğin HMGB1 DNA bağımlı immün komplekslere bağlanarak TLR 9 için sinyal üretmektedir (163). HMGB1 aynı zamanda immün fonksiyonu negatif yönde etkileyen birçok molekül ile de etkileşime girmektedir. Örneğin CD24 HMGB1 in negatif regülâtorlerinden biridir. İleri araştırmalar siglec-10 un CD24-HMGB1 bağlanmasında sinyal dönüştürücüsü olduğunu göstermiştir, benzer çalışmalar endojen tehlike sinyalleri olan HSP70 ve HSP90 dan da elde edilmiştir. Böylece CD24-siglec 10 reseptör kompleksi DAMPs sinyalleri için fren görevi üstlenmektedir (164). Buna ek olarak Trombomodulin de HMGB1 için bir negatif modülâtördür. Trombomodulin antikoagulan aktivitede de kritik öneme sahip trombin ilişkili protein C aktivasyonunda görev alan özellikle vasküler endotel hücrelerinde sentezlenen yüzey glikoproteinidir. Trombomodulin HMGB-1'e N terminal lektin bağlama alanından bağlanır ve HMGB1-RAGE bağlanmasını bloke eder (165,166). Bu bağlanma HMGB1 in N-terminal bölgesinin kırılmasına ve proinflamatuvar aktivitesinin azalmasına neden olur (167).

HMGB1'in Redoks Durumu

HMGB1 ile ilgili en son gelişmeler arasında, araştırmacılar HMGB1 içindeki 3 sistein grubunun thiol form durumlarının, molekülün tanınmasında ve aktivitesinde önemli bir tanımlayıcı olduğunu keşfetmişlerdir (Şekil 4). Yapısındaki 3 sisteinden ikisi A kutusunda 23 ve 45 inci pozisyonlarda bulunurken, üçüncü sistein B kutusunda 106 pozisyonda bulunmaktadır. Tüm sisteinlerin indirgenmiş formu (-SH) All-tiyol HMGB1 (Tamamen

indirgenmiş HMGB1), kısmen oksitlenmiş forma disülfit HMGB1 ve terminal oksitlenmiş forma sülfonil HMGB1 denir (166). A kutusundaki sisteinler disulfit bağı kuracak şekilde ideal yerleşmiştir fakat B kutusundaki sistein eşleşmemiş olarak bulunur. Hücre içinde çok yüksek redoks potansiyeli olduğundan dolayı HMGB1 redükte halde bulunur (-SH All-thiol) (168,169). Bu nedenle pasif salınan HMGB1 all-thiol formdadır. Fakat hafif oksitleyici koşullarda bile all-thiol HMGB1 C23-C45 disülfit forma dönüşebilir (168). HMGB1 in disulfit formu makrofajlar üzerindeki TLR4 ile etkileşime girerek TNF sekresyonu sağlar. All-thiol HMGB1 TLR4 sinyalini tetiklemez ama kemotaksisi uyarır (168,170). All-thiol HMGB1 formları; CXCR4 reseptör kompleks vasıtasıyla sinyal oluşturan CXCL12 ile heterokompleks oluşturur, disulfit HMGB1 bunu yapamaz. All thiol form hücre göçünü sağlarken, disülfit form sitokin salınımını uyarmaktadır. Böylece all thiol formu HMGB1in fonksiyonları için anahtar görevi görmektedir. Bu 3 thiol'den sadece birinin oksidasyonu HMGB1 in TLR4 aracılı ya da CXCR4 aracılı fonksiyonlarını kaybettirir (171).

Şekil 4. HMGB1in Redoks Durumuna Göre Fonksiyonları



HMGB1 Reseptörleri

1. RAGE (Receptor advanced glycation endproduct)

İleri glikasyon son ürünü olan reseptör RAGE, HMGB1 için gösterilen ilk reseptördür (172). RAGE; ateroskleroz, diyabet ya da kanser gibi akut ya da kronik inflamasyonda görev alan immunglobulin süper ailesinden multifonksiyonel transmembran proteindir (173). RAGE üzerinde HMGB1'i de içeren, S100 protein, B2 integrin Mac-1, amiloid B, fibriller agregatlar ve karbosi metile protein gibi birden çok bağlantı noktası vardır. HMGB1 in C terminal ucundaki aminoasitler (C150-C183) RAGE reseptörüne bağlanmadan sorumludur (174).

RAGE yoluyla oluşan HMGB1 sinyali NF-KB nükleer transkripsiyon faktörlerinin ve TNF, IL-6, CCL3, CCL4 ve CXCL12 gibi sitokin ve kemokin transkripsiyonunu yapar (175,176). Ek olarak HMGB1-RAGE etkileşimi hücre göçünde tümör proliferasyonunda matriks metalloproteinazlarının invazyon ve ekspresyonunda rol alan ERK-MAP kinaz yolağının aktivasyonuna yol açar (177,178). RAGE ve Mac-1, HMGB1 aracılı nötrofil ekstravazasyonunda ve göçünde önemli rol oynamaktadırlar (179). HMGB1-RAGE etkileşimi hücre yüzeyinde lökositlerin göçüne ve bağlanmasına izin veren integrin ve CD44'ü polarize eder ve ICAM-1 ekspresyonunu tetikler. Bu nedenle RAGE ve HMGB1 etkileşimi hücre göçü ve işe başlamaları açısından önemlidir.

RAGE aynı zamanda HMGB1 in makrofajlara reseptör aracılı alımı için önemlidir (180). HMGB1 in makrofaj içine alımı içeride ya da dışarıda sinyal üretimi ile lizozom rüptürüne inflamazom aktivasyonuna ve propitozise yol açar.

2. TLRs (Toll –like receptors)

DAMPs'ların önemli bir kısmının TLR4 kullanarak sinyal ürettiği gösterilmiştir. TLR4 sadece LPS için değil aynı zamanda doku hasarı ve stresi içinde önemli bir reseptördür (181). İlk olarak Park ve ark. ları tarafından invitro koşullarda HMGB1 ile uyarılan makrofaj aktivasyonunda TLR4 e gereksinim olduğu gösterilerek, HMGB1 TLR4 kompleksi tanımlanmıştır (182,183). İmmunfloresan kullanılarak HMGB1 in TLR4/MD2 (myeloid diferanciation factor 2) reseptör kompleksiyle doğrudan etkileşime geçtiği gösterilmiştir (183). Birçok deneysel modelde HMGB1- TLR4/MD2 kompleksinin TNF-alfa ve NF-κB aktivasyonu yaparak inflamasyonu ve immün regülasyonu uyardığı gösterilmiştir. Bu deneyler akut ve kronik inflamasyon modelleri içerirler.

3. HMGB 1- CXCR4 (chemokine receptor type 4)

HMGB1in birçok hücre tipinin göçünü stimule ettiği bulunmuştur (184). Bu göçlerin birçoğunda RAGE görevli iken, yeni çalışmalar göstermiştir ki HMGB1 ilişkili kemotaksis olayında homeostatik kemokin CXCL12 ve CXCR4 ile HMGB1 in koordineli etkileşimi gerekmektedir (130, 185-187). All-thiol molekül HMGB1 CXCL12 ye 2 molekülü ile bağlanır; A kutusu ve B kutusu. HMGB1- CXCL12 kompleksi CXCR4 ile daha istekli bağlanarak monosit ve fibroblast göçünü teşvik etmektedir. Ayrıca CXCR4 ekspresse eden birçok hücre tipinin de göçünü uyarabilir. CXCL12 ekspresyonu RAGE bağımlı bir şekilde de meydana gelebilir (188). All thiol formu nükleusta bulunan doğal formdur. HMGB1-

CXCL12-CXCR4 eksenini hücre nekrozu ile açığa çıkan HMGB1 tarafından uyarılarak lökosit kemotaksisini uyarır. Oksitleyici türler tarafından oluşturulan disülfid HMGB1, TLR4 aracılığı ile yeni lökositleri uyararak inflamasyonun tırmanmasını tetikleyebilir.

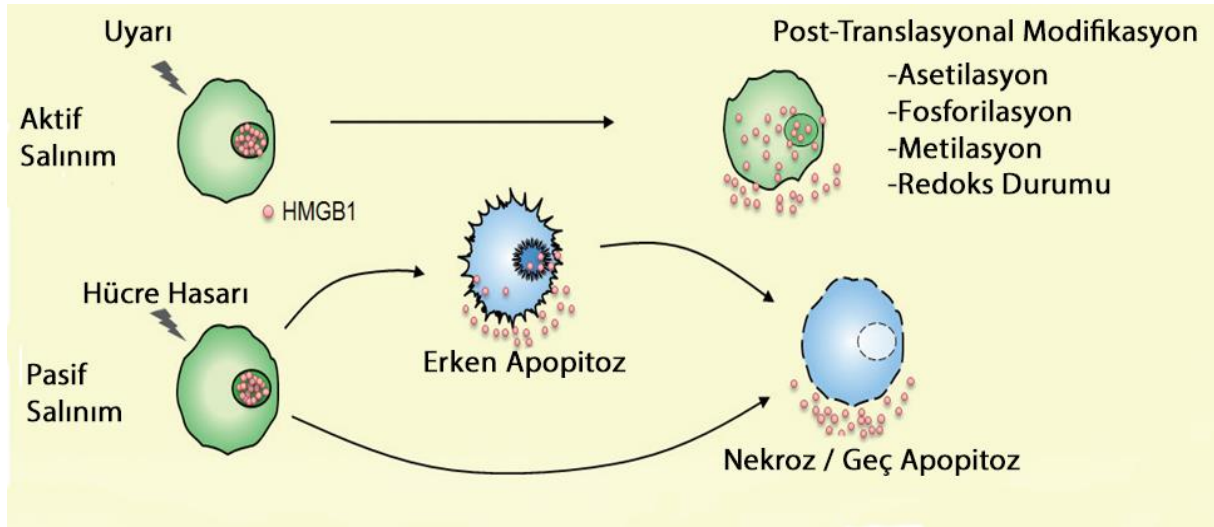
HMGB1 Salınımı

HMGB1 hücre dışına salgılandığında bir proinflamatuvar sitokin gibi fonksiyon göstermektedir (189). HMGB1in ekstrasellüler ortama salınımı iki esas yolla olmaktadır; inflamatuvar hücreler tarafından indüklenen aktif salınımı ya da nekrotik/apoptotik hücreler tarafından pasif salınımı (189) (Şekil 4).

HMGB1in aktif salınımı, HMGB1in nükleustan sitozole translokasyonunu gerektirir. Salgılanma yolağında klasik olarak bir lider peptide sahip olmayan HMGB1, endoplazmik retikulum ve golgi aparatı aracılığı ile serbest bırakılmaz. Özel endolizozomal veziküller ile klasik olmayan bir yol aracılığı ile salgılanırlar (178,190). HMGB1 nükleer eksport sinyallerine yanıt olarak nükleer lokalizasyonundan nükleus ve sitozol arasında devamlı taşınma halindedir.

Kararlı durumda bulunan HMGB1; fosforilasyon, asetilasyon, metilasyon gibi çok çeşitli posttranslasyonel modifikasyona uğrayarak sitozole geçmektedir (191,192). HMGB1'in LPS, IL-1, interferon gama ya da TNF gibi, makrofaj ve monositler, geç başlangıçlı proinflamatuvar sitokin salınımından sorumlu olduğu bildirilmiştir (115,176,190). Bu inflamatuvar hücrelerde HMGB1, lizin rezidülerini asetilleyerek nükleustan sitozole taşınmasını sağlar (193). HMGB1 in DNA'ya olan bağlanma isteği proteinlerin asetilasyon durumuna bağlıdır, az asetilasyon olduğunda HMGB1 DNA'ya güçlü bağlanır (195). HMGB1 klasik protein kinaz C kalsiyum bağımlı mekanizmaya bağlı olarak, nükleer lokalizasyondaki serin rezidülerinin TNF-alfa ile fosforilasyonu ile da salgılanmaktadır (191,195). Sitoplazmaya geçmiş hiperfosforile HMGB1, karyopherin alfa 1 reseptörüne karşı (İki kompartman arasında makromoleküllerin taşınımı ile ilgili nükleer taşınım reseptörleri vardır bunlara Karyoferinler denir. Bu üyelerden bazılarının görevi makro moleküllerin sitoplazmadan nükleusa taşınması (import-importinler) diğerlerinin görevi ise makromoleküllerin nükleustan sitoplazmaya taşınmasıdır (eksport-eksportin) düşük bağlanma afinitesi göstererek hücre içine geri alımı engellenir (191). Diğer posttranslasyonel modifikasyonlardan biriside HMGB1 in nötrofillerden aktif sekresyonunu indükleyen, nükleustan sitoplazmaya taşınmasını sağlayan, A kutusunun yapısını değiştirerek DNA bağlanma afinitesini azaltan 42-lisin aminoasitinin metilasyonudur (Şekil 5) (192).

Şekil 5. HMGB1 salınımı ve post-translasyonel modifikasyonu



Apoptozis ya da nekrozde HMGB1 pasif olarak salgılanır (116). Kromatin bağlı HMGB1 hücre membran bütünlüğünü kaybettiğinde hızla dışarı çıkar (21,196,197). Nekrotik hücrelerden salınan HMGB1in inflamasyonu tetiklediğini kanıtlamak için HMGB1 KO- nekrotik hücrelerin inflamasyon oluşturma yeteneklerinin azalmış olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda apoptotik hücrelerinde HMGB1 salgıladığı gözlemlenmiştir ama apoptotik hücrelerde mitokondri tarafından üretilen serbest oksijen radikalleri C106 üzerinde oksidatif modifikasyona neden olmaktadır ve bu da proinflamatuvar sinyaller yerine immun aktiviteyi baskılayıcı sinyaller oluşturmaktadır. (198) Bu mekanizma neden apoptozisin immun cevap oluşturmadığına bir açıklamadır.

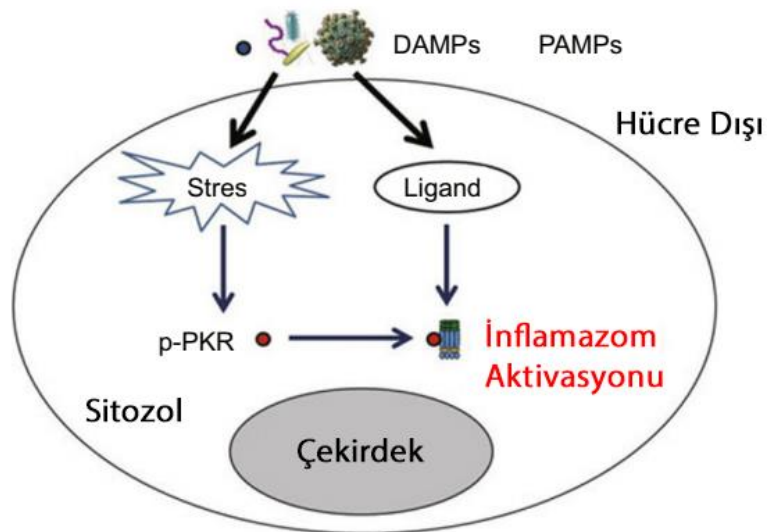
HMGB1 Salınımının İnflamazom tarafından düzenlenmesi

İlk çalışmalarda kaspaz aktivasyonunun inhibisyonu ile endotoksemi ve deneysel sepsis modellerinden HMGB1 salınımının belirgin olarak azaldığı buna bağlı olarak da hayvanın hayatta kalma şansının arttığı gösterilmiştir. Invitro olarak non-spesifik kaspaz inhibitörlerinin makrofajlardan endotoksin ilişkili HMGB1salınımını bloke ettiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar inflamasyon süresince immün hücrelerden kaspaz-bağımlı bir şekilde aktif olarak HMGB1 salındığını göstermektedir (199). Kaspazlar; programlanmış hücre ölümü sırasında substratları parçalayan aspartat-özümlü sistein proteazlarıdır. Tüm canlılarda patojen ile enfeksiyon sonrası oluşan immünite programlanmış hücre ölümüyle oldukça ilişkilidir. Çok gelişmiş organizmalarda hücre içi çoklu-protein kompleksi olan inflamazom kaspaz-1 aktivitesini düzenler ve pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in olgunlaşmasını sağlar. Böylece programlanmış hücre ölümünün proinflamatuvar formu olan proptozisi başlatır

(200,201). İnflamazomların aynı zamanda hücre içi çevrenin düzenlenmesinde bir çeşit gözetici rolü de bulunmaktadır. En az iki farklı bileşenden oluşurlar; pro-kaspaz 1 ile NOD-Like reseptör (NLR) molekülü veya PHYIN ailesi molekülüdür (202). NLR reseptör bölgesi Lösinden zengin bir kısım içerir (LRR) ve bu bölgenin ligand bağlanma fonksiyonu olduğu düşünölmekteydi. Çoğu inflamazom protein kompleksi Apoptozis ilişkili speck benzeri protein (ASC) içermektedir. Bu kısım pro-kaspaz 1'i NLR veya PHIN molekülüne bağlar. NLRP1, NLRP3, NLRC3 ve AIM2 kaspaz-parçalayıcı yapı içinde fonksiyon gören çok iyi bilinen bazı inflamazom bileşenleridir (200).

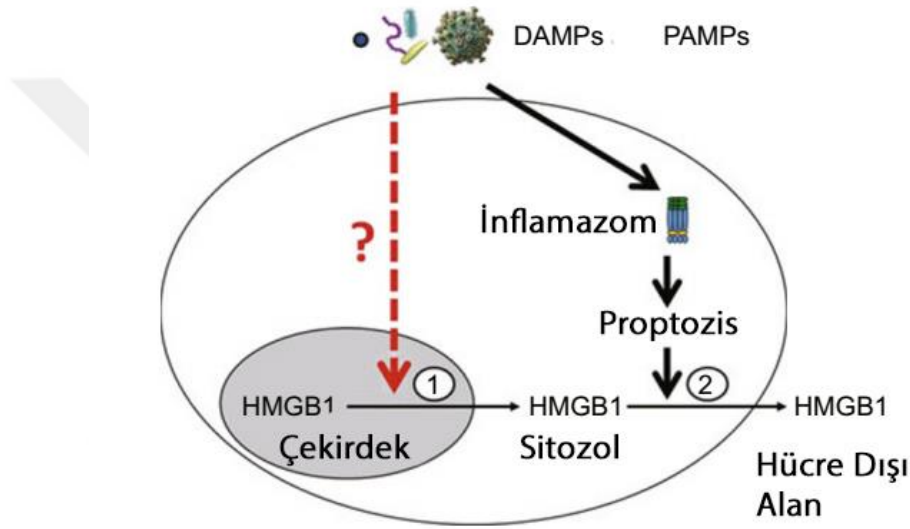
Güncel çalışmalarda çok çeşitli ekzojen ve endojen tehlike sinyaline karşı aktive olan immün hücrelerin inflamazom aracılığıyla HMGB1 salgıladığı kanıtlanmıştır (141, 203). Bu çalışmalarda HMGB1 salınımının büyük kaynağının inflamazom aracılı salgılanma olduğu vurgulanmaktadır. Yeni çalışmalarda özellikle NLRP3 inflamazomunun obezite, tip II diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, gut, sepsis ve kolit gibi hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermektedir (201,204). En iyi tanımlanmış inflamazom NLRP3 inflamazomudur ve bakteri, RNA virüsleri, dsRNA, hücre dışı ATP, monosodyum ürat kristalleri, adjuvan alimünyum ve serbest yağ asitleri gibi ekzojen ve endojen tehlike sinyalleri ile tetiklenir (201). Çift sarmal RNA bağımlı kinaz (PKR) hücre içi RNA bağlayan anti-viral olduğu düşünölen bir proteindi. Yakın çalışmalarda ise bu proteinin inflamazom aktivasyonu ve HMGB1 salınımı için anahtar rolü olan bir kilit protein olduğu gösterilmiştir (Şekil 6) (205).

Şekil 6: İnflamazom aktivasyonunda etkili faktörler



İnflamazomun AIM2 bileşeni, pirin ve HIM bölgelerinden oluşmaktadır. Ligand ortamda yoksa AIM2 molekülünün bu iki bileşeni inhibe durumdadırlar. AIM2 çift sarmallı DNA'yı HIM alt ünitesiyle tanımakla görevli hücre içi bir reseptör olarak görev yapmaktadır (202). HIM tarafından dsDNA tanındıktan sonra pirin alt ünitesi serbestleşir. Pirin de ASC ile birlikte bir inflamazom kompleksi oluşumuna katkıda bulunur. Sonuç olarak immün hücreler ekstrasellüler ortama HMGB1 salınımını inflamazom aracılığıyla gerçekleştirmiş olurlar (Şekil 7).

Şekil 7: Aktive olmuş immün hücreden HMGB1 salınımı



Propitozis hızlı plazma rüptürü ve intrasellüler proinflamatuvar moleküllerin salınımı ile karakterize inflamasyon aracılı hücre ölümüdür. Propitozis te HMGB1 aktif olarak salınmaktadır. Kaspaz 1 propitoziste ana rol oynarken apoptoziste yer almaz ve propitozis süresince inflamazomlar tarafından aktive edilir. Propitozis sırasında serbestleşen HMGB1, son zamanlarda tanımlanmış PKR gibi klasik inflamazom bileşenleri ile regüle edilir (120). PKR ve inflamazom ile yükselen HMGB'in yüksek oranda asetile olduğu gözlemlenmiştir. Zıt olarak makrofaj nekrozisinde salınan HMGB1 asetile değildir (141,203). Lu ve arkadaşları, hiperasetile HMGB1i propitozis için yeni bir biyomarker olarak göstermiştir (205).

İnflamasyonda HMGB1

DAMP molekülleri enfeksiyon olmadan kendine özgü reseptörlere bağlanarak erken doğal ve kazanılmış immün yanıtı tetikler (189). Steril inflamasyon olarak adlandırılan bu

erken yanıt, travma, iskemi/reperfüzyon hasarı ya da kimyasal aracılı doku yaralanması sonucunda ortaya çıkan hücresel stres tarafından tetiklenir (189). Steril inflamasyondaki immun yanıt inflamatuvar hücre göçü, hafıza T hücre oluşumu ve proinflamatuvar sitokin ve kemokin üretimi ile karakterizedir (206,207). DAMPs'ın steril inflamasyonu tetikleme mekanizmaları; PRR aktivasyonu ile oluşturulan sinyalizasyon, proinflamatuvar sitokin ve kemokin salınımı ve PRR dışı spesifik DAMPs reseptörleri aracılığı ile oluşur (189).

HMGB1 nekrotik hücrelerden salındıktan veya aktive makrofajlardan salgılandıktan sonra bir DAMPs molekülü gibi davranır. Dentritik hücrelerin olgunlaşma, migrasyonunu ve RAGE aracılığı ile T hücre aktivasyonunu kontrol eder. Bu yüzden doğal immün sistemde steril inflamasyonun önemli bir mediatörü olarak işlev görür (208-210). Bu monosit ve T hücreler, inflamasyonu artıracak şekilde proinflamatuvar sinyal ve sitokinleri üretir (189). Bununla birlikte HMGB1 fare makrofajında RAGE'e bağlanarak IL-1 β , TNF- α , IL-6 üretimi ile ilgilidir. DNA ya bağlanmış HMGB1, immün hücrelerin olgunlaşmasını ve sitokin üretimini RAGE ve TLR9-MYD88 bağımlı yolak ile sağlar. Apoptotik hücrelerden salınan nükleozoma bağlı HMGB1, antijen sunan hücre aktivasyonunu ve makrofajların sitokin salınımını indükler (189). Günümüzde HMGB in proinflamatuvar sitokin aktivitesi ile ilgili yeni bulgular özellikle iskemi-reperfüzyon hasarı, travma, RA, SLE gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde bir tehlike sinyali olarak davrandığını göstermektedir (22,211). Bu çalışmalar aynı zamanda HMGB1in anjiogenezis gibi doku iyileşmesinde ve doku remodelizasyonu ile da ilgili olduğunu ortaya çıkarmıştır (212,213).

Hastalıklarda HMGB1

HMGB1 seviyeleri hücrelerin akut olarak etkilendiği olaylarda artmaktadır (109). Birçok hayvan modeli akut steril inflamasyonlarda HMGB1in inflamatuvar olayları yönetme mekanizmasını aydınlatmak için kullanmıştır.

Akut steril inflamasyonlara ek olarak HMGB1 aynı zamanda kronik inflamatuvar olaylara katılmaktadır (109). Özellikle HMGB1 romatolojik hastalıkların patogenezinde oldukça önemlidir (214,215). Sağlıklı gruplarla karşılaştırıldığında serum HMGB1 seviyeleri birçok hastalıkta daha yüksektir ve hastalık aktivitesi ile koreledir. Osteoartritte hastaların sinoviyal sıvısında HMGB1 aktivitesi oldukça yüksektir (215) Deneysel artrit modellerine verilen anti-HMGB1 antikollarının sinoviyal inflamasyonu ve eklem şişliğini azalttığı gözlemlenmiştir (216,217). Benzer şekilde Romatoid sinovit biyopsisindeki yüksek HMGB1 seviyeleri eklem harabiyeti ile orantılıdır, eklem içi HMGB1 enjeksiyonu ile eklem harabiyeti

oluşturulabilir (21,218-220). Romatoid artritte kullanılan geleneksel tedavi olan altın tuzları, HMGB1 in makrofajlardan salınımını engellemektedir (221).

Sistemik Lupus eritematozusda (SLE), serum HMGB1 seviyeleri hastalığın aktivitesiyle koreledir (222). Ölü hücrelerin birikimi SLE patogenezinde sorumlu tutulmuştur ve son kanıtlar göstermektedir ki apoptotik hücrelerdeki HMGB1-nükleozom kompleksi normal farelere enjekte edildiğinde dsDNA ya karşı antikor ürettikleri gözlemlenmiştir (223). HMGB1 aşırı salınımı polimiyozit ve dermatomyozitte tespit edilmiştir (224-226). Glukokortikoid tedavisi altındaki kronik miyozitli hastalarda klinik iyileşme ile kas dokusundaki HMGB1 seviyeleri arasında korelasyon vardır (224). Sklerodermadaki serum HMGB1 seviyeleri, deri fibrozisi ve bozulmuş akciğer fonksiyonu ile koreledir (227). Artmış HMGB1 seviyeleri idiyopatik pulmoner fibrozis gelişen hastalarla alakalıdır. Bleomycin ile akciğer fibrozisi geliştirilen deneysel hayvan modellerinde, anti-HMGB1 antikorlarının akciğer fibrozisinden koruduğu gözlemlenmiştir (228).

Romatolojik hastalıklara ek olarak, HMGB1 aynı zamanda kanser ve diyabet gibi diğer kronik hastalık durumlarında da yükselmektedir (109). TLR4 kimyasallarla indüklenen deri kanseri gelişimde önemli bir rol oynamaktadır. Nekrotik keratinositler tarafından üretilen HMGB1, TLR4 aracılı immun reaksiyonu tetiklemektedir (229). HMGB1 aynı zamanda otoimmün diyabet gelişiminde de yer almaktadır. HMGB1 hasarlanmış pankreatik ada hücrelerinden pasif olarak ya dendritik hücre gibi otreaktif hücrelerle infiltre olmuş ada hücrelerinden aktif sekrete edilmektedir. Deney hayvanlarında yapılan HMGB1 blokajı otoimmün progresyonu önlemekle kalmayıp, aynı zamanda diyabet oluşumunu da geciktirmektedir.

Tedavide Hedef olarak HMGB1

HMGB1'in inflamasyonun güçlü bir aracısı olarak keşfi ve birçok inflamasyon durumunda HMGB1in ekstrasellüler ortamda bulunması ile HMGB1i hedef alan tedaviler araştırılmaya başlanmıştır (194). HMGB1'in erken inflamasyon mediatörleri olan TNF ve IL-1'den sonra salınması, HMGB1'i hedef alan tedavilerin akut inflamatuvar olayların geç evrelerini etkileyebileceğini düşündürmüştür (194).

İlk olarak LPS'nin indüklediği endotoksemide HMGB1e karşı geliştirilen poliklonal tavşan antikorlarının etkinliği değerlendirilmiştir (115). Gecikmiş bir tedavi rejimi izlense dahi, endotokseminin indüklediği ölümlerden koruduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada

endotoksinin indüklediği akciğer hastalığında; HMGB1e özgü poliklonal antikorlar kullanılarak hastalığı büyük ölçüde iyileştirdiği gözlemlenmiştir (230). Deneysel sepsis modelinde, HMGB1 i hedef alan tedaviler, daha önce araştırılan diğer sitokinleri hedef alan tedavilerden daha geniş terapötik pencereye sahiptir.

Poliklonal HMGB1 antikorları ile yapılan çalışmaların umut verici olması diğer HMGB1 antagonistlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bu güne kadar iki değişik HMGB1 antogonisti (A kutusu proteini ve etil pürivat) başarıyla test edilmiştir. Nötralize eden anti-HMGB1 antikorları ise sepsis ve artrit deneysel modellerinde test edilmektedir.

A kutusu tedavisi hem sepsiste hem de kollajenin tetiklediği artrit modellerinde değerlendirilmiştir (130,217). Poliklonal anti-HMGB1 antikorları ve günlük A kutusu tedavisi ile eşit ve etkili sonuçlar alınmıştır (130,217).

Sepsis modellerinde yapılan etil pirüvat tedavisi ile peritonit başlangıcından 24 saat sonrasına kadar tedavi uygulansa dahi mortalitenin azaldığı gösterilmiştir. Etil pirüvatın aynı zamanda HMGB1in serum seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (231,232). Etil pirüvat her ne kadar anti HMGB-1 antikorları ya da pürifiye A proteini kutusu kadar HMGB1e spesifik olmasa da FDA (food and drug administration) güvenli olarak nitelendirildiği için klinik tedavisel çalışmalarda sıklıkla kullanılır.

2.3 AAA ve HMGB1

2.3.1 AAA

MEFV genindeki mutasyonlar, AAA vakalarının çoğunda hastalığın sebebi olarak görülmektedir. Bu gen 16. Kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır (1-3). MEFV fibroblast ve dendritik hücreler gibi yapısal hücrelerde ve dolaşımında bulunan nötrofil, eritrosit, bazofil gibi myeloid kökenli hücrelerde ekspresse edilmektedir (5). MEFV geni pirin proteini üretir (3,4).

Pirin proteinin AAA hastalığındaki fonksiyonu iyi anlaşılammış olmasına rağmen; inflamasyonu tetikleyen sitokin salınımını baskılayarak direkt ya da indirekt bir 'down regülatör' özelliğine sahiptir (36). Başka bir deyişle AAA hastalarında üretilen inefektif pirin inflamasyonu baskılayamaz ve ateşle birlikte periton, plerva ve eklemlerde inflamasyon ataklarına yol açar.

Son çalışmalar göstermektedir ki AAA'de semptom olmayan dönemde de subklinik inflamasyon devam etmektedir (9). Eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein, serum amiloid A, beyaz küre sayısı, fibrinojen gibi akut faz reaktanları atak sırasında yükselmekte fakat semptomsuz dönemde normale dönmektedir (7). Ama AAA'nın en önemli komplikasyonundan biri olan amiloidoz, subklinik inflamasyonu devam eden semptomsuz hastalarda da gelişebilmektedir (11,12). Birçok çalışma AAA hastalarındaki subklinik inflamasyonu göstermeye yönelik yeni bir belirteç bulmayı amaçlamaktadır. Özer ve arkadaşları AAA hastalarında MPV (Mean Platelet Volume), RDW (Red Cell Distribution Width) ve NLR (NeutrophilLymphocyteRatio) subklinik inflamasyon göstergesi olarak kullanabileceğini göstermişlerdir (233). Subklinik inflamasyon anemi, splenomegali, azalmış kemik mineral dansitesi, kalp hastalığı ve özellikle fatal seyredebilen amiloidoz gelişimi açısından yüksek risk oluşturur (13,14).

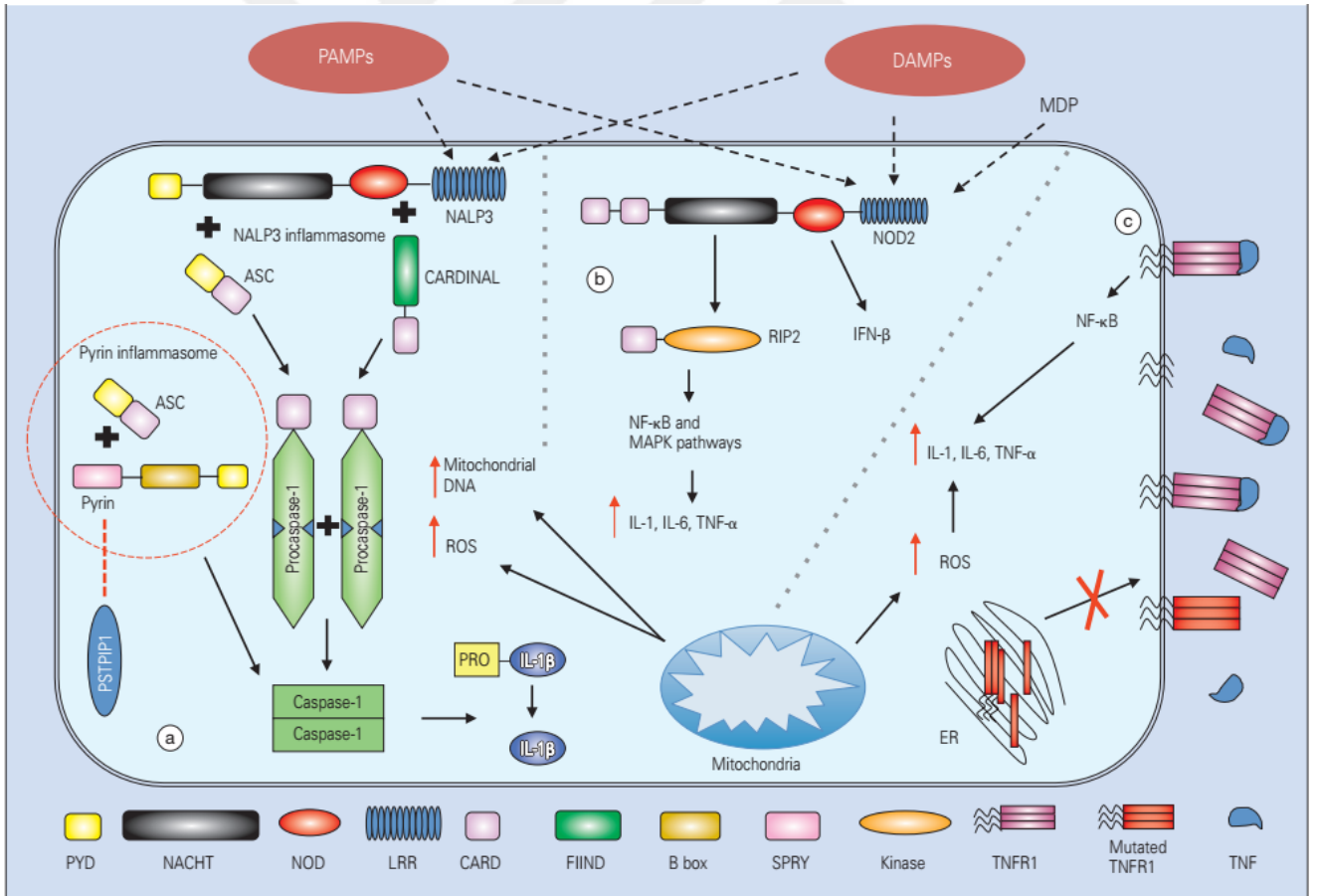
2.3.2. HMGB1

HMGB1 nekrotik, apoptotik hücrelerden artmış permeabilite ile pasif salınırken, stresse maruz kalmış hücrelerden, monosit, makrofaj ve dendritik hücreler gibi hücrelerden aktif olarak sekrete edilirler ve inflamatuvar reaksiyonu artırır (234). HMGB1 sinyalleri RAGE, TLR2, TLR4 kullanarak ve inflamatuvar hücrelerde TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olur (19,20).

Pirin mutasyonu ile ASC üzerindeki inhibitör etkisi ortadan kalkmakta ve aşırı kaspaz 1 salınımı ve buna bağlı IL-1 artışı, NF- κ B aktivasyonu olmaktadır. Hücre apoptozise/propitozise gitmektedir, inflamatuvar olaylar başlamaktadır.

Propitozis/Apoptozis hızlı plazma rüptürü ve intrasellüler proinflamatuvar moleküllerin salınımı ile karakterize inflamasyon aracılı hücre ölümüdür (18). Propitozis te HMGB1 aktif olarak salınmaktadır. Kaspaz 1 propitoziste ana rol oynarken apoptoziste yer almaz ve propitozis süresince inflammasomlar tarafından aktive edilir. Propitozis sırasında serbestleşen HMGB1, son zamanlarda tanımlanmış PKR gibi klasik inflammasome bileşenleri ile regüle edilir (18). PKR ve inflammasome hiperasetile HMGB in yükselmesine ve inflamatuvar olayların başlamasına neden olmaktadır. Hiperasetile HMGB1 propitozis için bir yeni geliştirilen biyomarker olarak göstermiştir. Pirin, ASC ve HMGB1 (DAMPS) ilişkisi Şekil 8’de gösterilmiştir.

Şekil 8. Pirin, ASC ve DAMPS



Aynı zamanda disülfit form HMGB1 TLR+/MD2 etkileşimi ile TNF-alfa ve NF- κ B aktivasyonu yaparak inflamasyonu uyarmaktadır

Dolayısı ile pirin molekülü ve HMGB1 arasında dolaylı olarak bir bağlantı kurulabilir. Bu da bize, ataksız dönemlerde de devam eden pirin eksikliğinin ve subklinik inflamasyonun mekanizması açısından farklı bir bakış açısı sunmaktadır.

HMGB1; Sistemik Lupus Eritematozis, Romatoid Artrit, İnflamatuar Myozit gibi birçok otoimmün hastalıkla ilişkili bulunmuştur (22,224). Bu hastalıklarda serumda, snovial sıvıda ve deri lezyonlarında ekstrasellüler ortamda HMGB1 artmış olarak bulunmuştur (22,222,224).

Bu da bize otoimmün hastalıklarda anlamlı olarak artmış bulunan HMGB1in yine bir otoinflamatuvar bir hastalık olan AAA'daki subklinik inflamasyonu göstermede yardımcı olabileceğini düşündürmüştür.



2.4 Hipotezler

1. Serum HMGB1 düzeyleri, AAA hastalarının ataksız dönemlerinde AAA'sı olmayanlara göre daha yüksektir. Bu yükseklik AAA hastalarında ataklar arasındaki subklinik inflamasyonun göstergesi olarak kullanılabilir mi?

2. Farklı MEFV gen mutasyonu olan AAA hastalarının serum HMGB1 seviyelerinde farklılık var mıdır?

3. AAA hastalarında serum HMGB1 seviyesi yüksekliği ile hastalığın prognozu arasında ilişki var mıdır? Serum HMGB1 seviyeleri daha yüksek olan hastalarda amiloidoz gelişme riski daha yüksek midir?

4. Bununla birlikte bu çalışma, ileride HMGB1i hedef alan tedavilerin FMF'de kullanımını araştırarak çalışmalara zemin hazırlayabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Ocak 2016-Kasım 2016 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi (BÜTF) Ankara Hastanesi Çocuk Nefrolojisi Bölümünde gerçekleştirildi. Prospektif kontrollü bir çalışma olarak Ocak 2016 yılında planlanan çalışmamız; Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Proje No: KA15/350) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.

Bu çalışma 60'ı BÜTF Çocuk Nefroloji Bölümünde AAA tanısı ile takip edilmekte olan hasta çocuk ile yaş ve cinsiyeti hasta çocuk grubuna benzer sağlıklı 60 gönüllü bireyden oluşturulan gruplar üzerinde yapıldı. Çalışma başlangıcında gruplar arasında anlamlı fark bulabilmek için gerekli olgu sayısı istatistiksel güç analizi yapılarak tespit edildi.

3.1 Olgular

Çalışmaya AAA tanısıyla BÜTF Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalında takipli, ek hastalığı bulunmayan, 5 ile 18 yaş arasında olan ve rutin poliklinik kontrollerine başvuran çalışmaya gönüllü 60 hasta dahil edildi. Bu hastalar Grup I'i oluşturmaktaydılar. Her hasta ve ailesinden çalışmaya başlamadan önce onam alındı. Tüm hastalar Tel Hashomer ve Yalçinkaya AAA kriterlerini taşımaktaydı ve tüm hastaların genetik incelemesi yapılmıştı. Tüm hasta grubunun hastane kayıtları incelenerek AAA tanısı aldığı tarihi, genetik inceleme sonuçları, AAA için kullanmakta oldukları ilaç doz ve süresi, soygeçmiş özelliklerine ulaşıldı. Bunun yanında hasta ve ebeveynlerinin doğum yerleri de kayıt edildi. Ek kronik hastalığı bulunan ve çalışma için bilgilendirilmiş onam vermeyen hastalar ile kolşisin dışında başka ilaç kullanan veya kolşisin yanında ek tedavi alan hastalar çalışmaya dahil edilmemiş ve genetik çalışmalarında mutasyonlarına ulaşamayan 3 hasta ise sonradan çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol grubu; BÜTF Sağlam Çocuk Polikliniğine başvurmuş ve rutin takip için kan alınması gereken, hiçbir hastalığı bulunmayan 5-18 yaş arasındaki, kendisi ve ailesinden bilgilendirilmiş onam formu alınan, çalışmaya gönüllü 60 sağlıklı çocuk bireyin katılımıyla oluşturuldu. Gönüllü bireyler grup II olarak nitelendirildi.

Hasta grubunun ailelerinin doğum yerleri, anne ve babaları arasındaki akrabalık durumu, ailede hastalığın olup olmadığı sorgulandı. Ailelerin doğum yerleri gruplandırılırken Türkiye İstatistik Kurumunun nüfus bazlı bölgeleri kullanıldı.

3.2 Örneklerin Toplanması

Çalışmada atak veya ataksız dönemde olmalarına bakılmaksızın AAA hastalarından ve sağlıklı gönüllü kontrol grubundan HMGB1 seviyelerinin incelenmesi için EDTA'lı tüpe 1ml periferik venöz kan örneği toplandı. Kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Bu serum örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -80°de saklandı.

Hasta grubunda ayrıca C-Reaktif Protein (CRP), Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR), fibrinojen, tam kan lökosit sayısı (WBC) gibi akut faz reaktanları ile Kreatin Kinaz (CK), Aspartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), kan kreatinin düzeyi ve idrar örneklerinde mikroalbumin paneli de çalışıldı.

3.3 HMGB1 Analizi

Tüm hasta ve kontrol grubu kan örnekleri 2 ay içerisinde toplanarak örnekler analiz edilmek üzere BÜTF Merkez Biyokimya Laboratuvarına ulaştırıldı. HMGB1 düzeyinin tespiti için "Enzyme-linked Immunosorbent Assay KitFor High Mobility Group Protein 1 (HMGB1) Cloud-Clone Corp®. Houston USA" kiti kullanılarak ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ile yapıldı. Bu kit ile 12.5-800pg/mL aralığındaki HMGB1 düzeyleri tespit edilebilmektedir. Serum HMGB1 ölçümleri örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen laboratuvar görevlileri tarafından yapıldı.

3.4 İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda; AAA ve kontrol gruplarını oluşturacak örneklem büyüklüğü sonuç değişken olan HMGB-1 düzeyinden yararlanarak hesaplama yapıldı. Çalışmamızda örneklem büyüklüğünü hesaplamak için Li ve arkadaşlarının (215) ciddi diz osteoartritlilerde yaptığı çalışmadaki HMGB-1 değişkenine ilişkin tanımlayıcı değerleri kullanıldı. İki grubu ayırt etmek için 0,73 ng/ml'lik fark ve % 70'lik varyasyon olduğu varsayılarak, her grup için alınması gereken örneklem büyüklüğü $power=0,80$ ve $\alpha=0,05$ için en az 49'er birey olarak hesaplandı. Elde edilecek veriler SPSS for Windows 19 paket programında değerlendirildi. Kovaryant etkileri (yaş, cinsiyet vb.) arındırıldıktan sonra elde edilecek HMGB-1 değerlerinin grupların karşılaştırılması Mann-Whitney U testi, gruplardaki kategorik verilerin karşılaştırması da Ki-Kare testi ile yapıldı. Tanımlayıcı değer olarak nicel veriler için ortanca ve minimum maksimum değerler ve nitel veriler için yüzde ve frekans değerleri verildi. İstatistiksel anlamlılık değeri 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalında AAA tanısı ile takip edilen 57 çocuk hasta ile bilinen sağlık problemi olmayan ve rutin kontrolleri için hastaneye başvurmuş 60 gönüllü çocuk dahil edildi. Çalışmaya katılan 117 çocuğun 55'i (%47) kız, 62'si (%53) ise erkekti. Çalışmaya katılan tüm çocukların ortanca yaşı 123(min-maks: 20-220) ay olarak hesaplandı.

AAA grubunu oluşturan 57 hastanın 33'ünde (%57,9) ailede AAA öyküsü bulunmaktaydı. Yine 57 hastanın ebeveynleri incelendiğinde 6 hastanın (%10,5) anne-babası arasında akrabalık mevcuttu.

Çalışmadaki 57 AAA hastasının ebeveynlerinin memleketleri nüfus bazlı bölgelere göre incelendi. Hasta annelerinin 18'i Batı Karadeniz bölgesi (%31,6), 14'ü Batı Anadolu (%24,6), 5'i (%8,8) Akdeniz Bölgesi, 4'ü (%7) Doğu Marmara Bölgesi, 4'ü (%7) Orta Anadolu Bölgesi, 3'ü (%2,6) Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, 3'ü (%5,3) Güneydoğu Anadolu Bölgesi, 2'si (%3,5) Doğu Karadeniz Bölgesi, 2'si (%3,5) Ortadoğu Anadolu Bölgesi, 1'i (%1,8) Ege Bölgesi ve 1'i de (%1,8) Kuzey Irak doğumluydu. Hasta babalarının ise 19'u (%33,3) Batı Karadeniz Bölgesi, 13'ü (%22,8) Batı Anadolu Bölgesi, 8'i (%14) Orta Anadolu Bölgesi, 4'ü (%7) Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, 3'ü (%5,3) Ortadoğu Anadolu Bölgesi, 2'si (%3,5) Doğu Marmara Bölgesi, 2'si (%3,5) Akdeniz Bölgesi, 2'si (%3,5) Doğu Karadeniz Bölgesi, 2'si (%3,5) Kuzey Irak – Suriye, 1'i (%1,8) Ege Bölgesi ve 1'i (%1,8) de Güneydoğu Anadolu Bölgesi doğumluydu (Tablo 7).

Tablo 7. Hasta ailelerinin bölgelere göre dağılımı

Bölgeler	Anne		Baba	
	n	%	n	%
Batı Karadeniz	18	31,6	19	33,3
Batı Anadolu	14	24,6	13	22,8
Orta Anadolu	4	7	8	14
Akdeniz	5	8,8	2	3,5
Doğu Marmara	4	7	2	3,5
Doğu Karadeniz	2	3,5	2	3,5
Kuzeydoğu Anadolu	3	5,3	4	7
Ortadoğu Anadolu	2	3,5	3	5,3
Güneydoğu Anadolu	3	5,3	1	1,8
Ege	1	1,8	1	1,8
Kuzey Irak- Suriye	1	1,8	2	3,5

AAA hastalarından oluşan Grup I'de hastaların ortalama takip süresi 5 (min-maks: 1-12) yıldır. Hastaların mutasyonları analiz edildiğinde 19 hastada homozigot M694V mutasyonu, 1 hastada homozigot M680I mutasyonu, 25 hastada birleşik heterozigot mutasyon ve 12 hastada da heterozigot mutasyon mevcuttu. 57 hastanın 45'inde en az bir alelde M694V mutasyonu mevcuttu (Tablo 8).

Tablo 8. Hasta grubunun MEFV gen mutasyonları

Mutasyon	Sayı	Yüzde
M694V Homozigot	19	%33,4
M694V / M680I	7	%12,2
M694V Heterozigot	6	%10,5
M694V / R202Q	5	%8,7
M680I / V726A	4	%7
M694V / E148Q	3	%5,2
M694V / R761H	3	%5,2
M680I Heterozigot	3	%5,2
E148Q Heterozigot	2	%3,5
M694V / V726A	2	%3,5
NP680I / K695R	1	%1,7
M680I / M680I	1	%1,7
P369S Heterozigot	1	%1,7

AAA grubundaki hastaların tümü kolşisin tedavisi almaktaydı. Hastalar ortalama 1mg/gün (0,5-1,5 mg/gün) dozunda kolşisin kullanmaktaydı. Çalışmaya dâhil edilen 57 hastanın ortalama serum kreatinin değeri 0,58 mg/dL (0,4-0,88), C-Reaktif protein 2,63 mg/L (0,2-77,8) mg/L, AST 22 U/L (13-35), ALT 17 U/L (7-49), CK 100 U/L (32-950), Sedimentasyon 7 mm/Sa (2-66), Hemglobin 13 g/dL (10,2-16), Beyaz küre 7660 bin/ μ L (3970-13930), platelet 295000 bin/ μ L (157000-495000), fibrinojen 306 mg/dL (192-602) ve idrar mikroalbümin değerleri 9,2 mg/gr/cre (3-34,9) olarak bulundu.

AAA'lı hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında iki grup arasında yaş, cinsiyet ve ağırlık yönünden farklılık saptanmadı. AAA hastalarından oluşan grup I'de ortalama HMGB1 düzeyi 47,9 ng/dl (21-406) iken grup II'de 32,71 ng/dl (16-118) olarak bulundu. AAA hastalarından oluşan grup I'de kontrol grubuna göre HMGB1 düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.0001$) (Tablo 9). AAA'lı hastalarda HMGB1 cinsiyet arasındaki ilişki incelendiğinde kız hastalarda ($n=25$) ortalama HMGB1 düzeyi 47,9 ng/dl (21-321) iken erkek hastalarda ($n=32$) 49,9 ng/dl (29-405) olarak bulundu ($p=0.303$).

Tablo 9. Gruplar arasındaki demografik özellikler ve HMGB1 sonuçları

	Grup I (AAA) n=57	Grup II (Kontrol) n=60	<i>p</i>
Cinsiyet (K/E)	25/32	30/30	0,583
Yaş (ay)	126 (22-216)	122 (20-220)	0,766
Vücut Ağırlığı (kg)	33,9 (12,5-116)	37 (14-98)	0,599
HMGB1 (ng/dl)	47,9 (21-406)	32,71 (16-118)	0,001

AAA hastalarından oluşan I. grubun serum HMGB1 değerleri, hastaların izlem süresine göre değerlendirildiğinde takip süresi ile serum HMGB1 düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0,882$). İzlem süresi 5 yıl ve üzeri olan hastalarda ortanca HMGB1 düzeyi 49,5 ng/dl (21-406) iken 5 yıldan daha kısa izlem süresine sahip hastalarda ortalama HMGB1 düzeyi 46,7 ng/dl (23-321) olarak hesaplandı ($p=0,533$). Hastaların AAA tanısı aldıkları yaş ile serum HMGB1 düzeyleri arasında da anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ($p=0,959$).

AAA hastalarının serum HMGB1 düzeyleri aile hikâyesi olan ve olmayan hastalarda farklılık göstermezken ($p=0,566$), ebeveynleri arasında akrabalık olan ve olmayan hastalar arasında da anlamlı farklılık yoktu ($p=0,621$). Hastaların serum HMGB1 düzeylerinin ailelerinin memleketleriyle olan ilişkisi araştırıldı. Hastaların serum HMGB1 düzeyi ile anne ($p=0,761$) ve babalarının ($p=0,495$) doğum yerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

AAA hastalarının serum HMGB1 düzeyleri ile diğer kan parametreleri arasındaki ilişki de analiz edildi. Buna göre hastanın serum HMGB1 düzeyi ile kan kreatinin, Crp, AST, ALT, CK, Sedimentasyon, Hemoglobin, Beyaz Küre, Platelet, fibrinojen ve idrar mikroalbümin ve MPV düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmezken hastaların nötrofil / lenfosit oranı ve RDW değerleri ile HMGB1 arasında anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü (Tablo 10).

Tablo 10. AAA'lı hastaların demografik ve laboratuvar bulgularının HMGB1 ile korelasyonu

Değerler	Ortanca	Korelasyon katsayısı	p
Yaş (Ay)	126 (22-216)	-0,012	0,897
Ağırlık (kg)	33,9 (12,5-116)	-0,042	0,656
Kreatinin (mg/dL)	0,58 (0,4-0,88)	-0,035	0,798
CRP (mg/L)	2,63 (0,2-77,8)	-0,074	0,585
AST (U/L)	22 (13-35)	-0,061	0,654
ALT (U/L)	17 (7-49)	0,151	0,261
CK (U/L)	100 (32-950)	-0,192	0,152
Sedimentasyon (mm/Sa)	7 (2-66)	-0,019	0,891
Hemoglobin (g/dL)	13 (10,2-16)	-0,034	0,802
Beyaz Küre (bin/ μ L)	7660 (3970-13930)	0,059	0,664
Platelet (bin/ μ L)	295000 (157000-495000)	0,043	0,750
Fibrinojen (mg/dL)	306 (192-602)	-0,144	0,287
Kolşisin Dozu (mg/gün)	1 (0-1,5)	0,175	0,192
İzlem Süresi (Yıl)	5 (1-12)	0,020	0,882
İdrar Mikroalbümin (mg/gr/cre)	9,2 3-34,9)	-0,022	0,871
MPV (fL)	7,33 (5,3-10,7)	0,112	0,447
Nötrofil / Lenfosit	1,22 (0,4-4,3)	0,350	0,02
RDW (%)	13,35 (10,6-17,4)	0,285	0,04

AAA grubunda hastaların mutasyonları ile serum HMGB1 düzeyleri arasında ilişki olup olmadığı test edildi. Mutasyon gruplarına göre hastalar arasında HMGB1 düzeyleri istatistiksel olarak farklı değilken ($p=0.619$), M694V mutasyonunu içeren ve içermeyen mutasyonu olan hastalar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,481$) (Tablo 11).

Tablo 11. Hasta mutasyon gruplarına göre HMGB1 analizi

Mutasyon Grupları	Hasta Sayısı	HMGB1 (ng/dL)	p
<i>M694V Homozigot</i>	19 (%33)	47,1 (31-108)	<i>0,803</i>
<i>Birleşik Heterozigot</i>	25 (%44)	47,9 (21-406)	
<i>Heterozigot</i>	12 (%21)	50,3 (27-322)	
<i>M680I Homozigot</i>	1 (%2)	49,5	
M694V Mutasyonu			
<i>İçeren</i>	45 (%79)	47,9 (21-406)	<i>0,481</i>
<i>İçermeyen</i>	12 (%21)	54,4(23-322)	

Çalışmaya katılan hastaların kan örnekleri hastaların atakta olup olmalarına bakılmaksızın toplandı. Hastaların 52'si atak dışı dönemde iken 5 tanesi AAA atağındaydı. Atakta olup olmamalarına göre hastaların kan değerleri incelendiğinde atak sırasında kan örneği alınan hastaların kan hemoglobin, platelet, sedimentasyon, CRP, fibrinojen, RDW ortancaları ve nötrofil/lenfosit oranları ile normal dönemdeki hastaların ortancaları arasında anlamlı farklılık var iken, serum HMGB1 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Hastaların atak durumuna göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

	Ataktaki Hastalar (n=5)	Ataksız Dönemdeki Hastalar (n=52)	<i>p</i>
HMGB1 (ng/dL)	42,2 (35-100)	48,3 (21-406)	0,774
CRP (mg/L)	51 (36,5-77,8)	1,8 (0,2-65)	0,0001
Fibrinojen (mg/dL)	452 (412-551)	295 (192-602)	0,0001
Sedimentasyon (mm/Sa)	30 (9-66)	6,5 (2-31)	0,001
Hemoglobin (g/dL)	12,3 (10,6-13)	13,1 (10,2-16)	0,035
Beyaz Küre (bin/ μ L)	8290 (4670-11600)	7485 (3970-13930)	0,356
Platelet (bin/ μ L)	387000 (214000-495000)	295000 (157000-478000)	0,048
Kreatinin (mg/dL)	0,55 (0,51-0,61)	0,59 (0,4-0,88)	0,206
AST (U/L)	20 (16-29)	22 (13-35)	0,651
ALT (U/L)	15 (7-23)	17 (9-49)	0,250
CK (U/L)	92 (37-127)	100 (32-280)	0,519
İdrar Mikroalbümin (mg/gr/cre)	7,2 (4,2-9,9)	9,2 (3-34,9)	0,262
Nötrofil / Lenfosit	1,85 (0,7-4,1)	1,18 (0,4-4,3)	0,04
RDW (%)	15,5 (14,4-16,2)	13 (10,6-17,4)	0,04
MPV (fL)	7,2 (5,7-8,4)	7,33 (5,3-10,7)	0,482

5. TARTIŞMA

AAA otozomal resesif genetik geçişli, sıklıkla Akdeniz çevresindeki nüfusu etkileyen otoinflamatuvar bir hastalıktır (54). Semptomlar hayatın erken dönemlerinde başlar ve sıklıkla vakaların çoğuna 20’li yaşlardan önce tanı konur. AAA kendini sınırlayan, tekrarlayıcı, genellikle 1-3 gün arasında süren, steril peritonit, plevrit, artrit ile ateş ataklarıyla karakterize bir hastalıktır. AAA hastalarında semptom olmayan dönemlerde subklinik inflamasyonun araştıran çalışmalarda, IL-6, IL-12, IL-17, IL-18, INF- γ ve TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin atak ve atak dışı dönemlerde sağlıklı kontrollere göre AAA’lı hastalarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular ile AAA’nın asemptomatik döneminde devam eden subklinik inflamasyonun varlığı kanıtlanmıştır (236-241). AAA’nın en önemli komplikasyonu olan amiloidoz, subklinik inflamasyonu devam eden semptomsuz hastalarda da gelişebilmektedir (11,12). Bu nedenlerle AAA’lı hastalarda subklinik inflamasyonun ne şiddetle devam ettiğini gösterebilecek kolay uygulanabilir bir belirteç ile hastalığın prognozu hakkında tahminde bulunulabileceği düşünülebilir. Literatürde AAA’lı hastalarda subklinik inflamasyonun devam ettiğini göstermek için CRP, idrar mikroalbümin, serum amyloid A gibi çeşitli parametreler test edilmiştir (240,241). Özer ve arkadaşlarının çalışmasında ise AAA’lı hastalarda ataksız dönemlerde nötrofil / lenfosit oranı, MPV ve RDW değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, bu değişkenlerin hastaların subklinik inflamasyonun göstergesi olarak kullanılabileceği söylenmiştir (233).

AAA’lı hastalarda pirin mutasyonu ile pirinin ASC üzerindeki inhibitör etkisi ortadan kalkar ve aşırı kaspaz 1 salınımı sonucu hücre apoptozis/proptozise gider. Bu proptozis sırasında ise aktif olarak HMGB1 salınımı olur (160,161). HMGB1 nekrotik dokulardan salındıktan sonra bir DAMPs molekülü gibi davranır ve dentritik hücrelerin olgunlaşma, migrasyonu ve RAGE aracılığı ile de T hücre aktivasyonunu kontrol eder. Bu yüzden doğal immün sistemde steril inflamasyonun önemli bir mediatörü olarak işlev görür (208-210). Sonuç olarak bu hücreler inflamasyonu artıracak şekilde proinflamatuvar sinyal ve sitokinleri üretirler (189). Günümüzde HMGB1’in proinflamatuvar sitokin aktivitesi ile ilgili yeni bulgular iskemi-reperfüzyon hasarı, trauma, Romatoid artrit, SLE gibi oto-immün hastalıkların patogenezinde bir tehlike sinyali olarak görev aldığını göstermektedir (22,211). Goldstein ve ark 2007 (242) yılında Romatoid artritli hastalarda serum HMGB1 değerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır ve bu çalışmadaki kontrol grubunun ortalama HMGB1 değeri bizim çalışmamızdakine benzer seviyededir. Benzer şekilde Hoshina ve ark (243) Kawasaki hastalığında, Taira ve ark (244) Churg-Strauss sendromunda, Li ve ark

(222) SLE hastalarında, Wibisono (245) ve ark Wegener granulomatozunda, Maugeri ve ark (246) sistemik sklerozda, Oktayoğlu ve ark (247) ise ankilozan spondilitli hastalarda yüksek HMGB1 düzeylerini göstermiştir.

HMGB1'in inflamasyonun güçlü bir aracısı olarak keşfi ve birçok inflamasyon durumunda ekstraselüler ortamda bulunması HMGB1'i hedef alan tedavilerin araştırılmasına neden olmuştur (195). HMGB1'i hedef alan tedavilerin akut inflamatuvar olayların geç evrelerini etkileyebileceği düşünülmüştür (195). İlk olarak LPS'nin indüklediği endotoksemide HMGB1'e karşı geliştirilen poliklonal tavşan antikorlarının etkinliği gösterilmiştir. Başka çalışmalarda Sistemik Lupus Eritematozus, Romatoid Artrit ve Juvenil Idiopatik Artrit gibi hastalıklarda ise inflamasyon göstergesi olduğu gibi tedavide hedef de olabileceği, anti-HMGB1 antikorları ile bu hastalıklarda inflamasyonun kontrol altına alınabileceği üzerine çalışmalar mevcuttur (248,249). Poliklonal HMBG1 antikorları ile yapılan çalışmaların umut verici olması diğer HMGB1 antagonistlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bugüne kadar iki değişik HMGB1 antagonisti başarıyla test edilmiştir ve sepsis ile deneysel artrit modellerinde çalışılmaya devam edilmektedir (130,217).

AAA'lı hastalarda HMGB1 düzeyini araştıran bir çalışma bildiğimiz kadarıyla literatürde mevcut değildir. Bizim çalışmamızda da AAA'lı hastalardaki yüksek HMGB1 değeri gösterilmiştir. Yine çalışmamızdan çıkan diğer bir sonuç; hastalarda HMGB1 seviyesinin hastanın atak durumundan etkilenmediğidir. Hasta ister atakta ister remisyonda olsun, devam etmekte olan inflamasyon süreci nedeniyle hastanın HMGB1 düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmaktadır. Özer ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmalarında AAA'lı hastalarda semptomsuz dönemlerde NLR, PLR, MPV ve RDW'nin yüksek olduğunu göstermişlerdir (233). Mazrouk ve ark (250) ise splenomegali ve MPV'nin devam eden inflamasyon için iyi bir gösterge olabileceğini göstermişlerdir. Uslu ve arkadaşları (13) ise Nötrofil/Lenfosit oranının subklinik inflamasyon göstergesi olması yanı sıra AAA'lı hastalarda amiloidoz gelişimi için de prediktör olduğunu belirtmişlerdir. Stojanovic ve ark (251) yaptıkları çalışmalarda atak dışı dönemlerde AAA hastalarında CRP'nin yüksek olduğu ve bir belirteç olabileceğini önermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Nötrofil/Lenfosit oranı ve RDW'nin HMGB1 ile korele olduğu tespit edildi. Bu iki değer AAA'lı hastalarda atak dönemine bakılmaksızın devam eden subklinik inflamasyonu gösteriyor olabilir. Diğer çalışmaların aksine çalışmamızda MPV ve CRP değerleri ile HMGB1 arasında anlamlı ilişki tespit edilemedi.

Bir inflamasyon göstergesi olarak HMGB1'in atakta olmayan ve tedavi altında olan hastalarımızda sağlıklı kontrollere göre yüksek olması, bu hastalarda tedavi ile inflamasyon sürecinin tamamıyla baskılanmadığını gösteriyor olabilir. Kolşisin tedavisi ile atak sıklığının ve amiloidoz gibi ciddi komplikasyonların azaldığı bilinen bir gerçektir. Kolşisin tedavisine rağmen hastalarda HMGB1 yüksekliği ile tespit edilebilen bu subklinik inflamasyonun klinik etkilerini henüz bilmiyoruz. Çalışmadaki hastalarımızın uzun dönem takip sonuçları bu konuda fikir verebilir. Bu hastalarda subklinik inflamasyonun kontrol altına alınabilmesi için ileriki çalışmalarda HMGB1antikorları bir hedef olarak kullanılabilir.

Literatürde AAA hastalığında kız/erkek oranları 1,16/1 ile 1/1,14 arasında değişmektedir (2,10,29). Bizim çalışmamızda AAA hastalarından oluşan grupta kız/erkek oranı 1/1,2 şeklindeydi. Literatürde kız ve erkek hastalarda hastalığın ciddiyeti konusunda kesin bilgi yer almamaktadır. Bizim çalışmamızda kız ve erkek hastaların HMGB1 düzeyleri arasında fark saptanmadı. AAA ile ilgili çalışmalarda hastaların büyük kısmının (yaklaşık %80) 10 yaşın altında tanı aldığı gösterilmektedir (10). Bizim çalışmamızda da hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 5,1 yıl olarak bulundu.

Türkiye'deki AAA hastalarında yapılan çalışmalarda hastaların yaklaşık %25-39 unda aile hikayesinin pozitif olduğu görülmektedir (65,252,253). Bizim hasta grubumuzun ise yaklaşık %58'inde aile hikayesi mevcuttu. AAA'lı hastalarda aile öyküsünün hastalığa etkisini inceleyen çeşitli çalışmalar mevcuttur (3,29). Biz çalışmamızda hastaların HMGB1 düzeyleri ile aile hikayesi olup olmaması arasında anlamlı bir ilişki tespit edemedik. Ülkemizde akraba evliliği sıklığı Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre %21 seviyelerindedir. AAA'lı hastalarda ise akraba evliliği görülme sıklığı %24-33 arasında bildirilmiştir (65,66,68). Bizim çalışmamızdaki hastaların %10 kadarında anne baba arasında akrabalık mevcuttu. Ailesinde akraba evliliği olan bireyler ile olmayan bireyler arasında serum HMGB1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere AAA'lı hastalarda serum HMGB1 düzeyi hastanın aile hikayesinden ve akraba evliliğinden etkilenmemektedir.

AAA hastalığının Türkiye'deki coğrafi bölgelere göre dağılımına baktığımızda %70'ten fazlası Orta Anadolu, Doğu Anadolu ve Karadeniz bölgesinde görülmektedir (29). Bizim çalışmamızdaki hastaların da yaklaşık %65 kadarı bu bölgelerden köken almaktaydı. Hastaların HMGB1 düzeyleri ile ailelerinin köken aldığı bölgeler arasında çalışmamızda anlamlı bir ilişki tespit edilemedi.

Çalışmadaki bir amacımız da HMGB1 düzeylerinin genetik mutasyonlarla ilişkisini incelemektir. Bu nedenle çalışmaya başlarken yalnızca genetik çalışma ile mutasyonu belirlenmiş hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastanın etnik kökeninden bağımsız olarak en sık görülen mutasyonlar ekson 10'da meydana gelen M694V, V726A, M680I ve M694I mutasyonlarıdır (3,4). Bizim hastalarımızın mutasyonlarının büyük kısmı da bu gruptaydı. Hastalarımızın %45'inde birleşik heterozigot mutasyon mevcutken, %33'ünde homozigot M694V mutasyonu %22'sinde de heterozigot mutasyonlar bulunmaktaydı. Hastalarımızın %78'inde herhangi bir alele M694V mutasyonu mevcuttu. Literatürde homozigot M694V mutasyonu bulunan hastalarda hastalığın daha erken yaşlarda ortaya çıktığı gösterilmiştir (254). Pras ve ark (44) M694V mutasyonu taşıyan hastalarda hastalığın daha erken yaşta ortaya çıktığını, kolşisine yanıtın daha az olduğunu ve daha sık amiloidoz geliştiğini çalışmalarında öne sürmüşlerdir. Dewalle ve ark ise M694V homozigot mutasyonu olan hastalarda hastalığın daha ciddi formda görüldüğünü ve bu mutasyonun erken hastalık başlangıç yaşı, artmış plörezi ve artrit sıklığı ile artmış amiloidoz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (57). Bunların aksine literatürde M694V mutasyonunun hastalığın kötü prognozu ile ilgili olmadığını söyleyen yayınlar da mevcuttur (53). Bu çıkarımlardan yola çıkarak biz de hastalarımızı M694V mutasyonuna göre gruplandırarak inceledik. Çalışmamızda hastanın serum HMGB1 düzeyinin M694V mutasyonu varlığıyla ilişkisi olmadığı sonucuna ulaşıldı. Buna göre hastanın serum HMGB1 düzeyi hastalığındaki subklinik inflamasyon için bir gösterge iken hastanın mutasyonundan etkilenmemektedir. Hastalığın prognozunun mutasyonla ilişkisi göz önüne alındığında, hastanın serum HMGB1 düzeyinin hastalığın prognozu ve amiloidoz gelişimi açısından bir gösterge olamayacağı sonucuna varılabilir. Hastanın serum HMGB1 düzeyi ile hastalığın prognozu, amiloidoz gelişim riski arasındaki ilişkinin tam olarak aydınlatılabilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren daha uzun takip süresine sahip çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızdaki hastaları atak durumlarına göre incelediğimizde akut inflamasyon göstergelerinin beklendiği gibi ataktaki hastalarda anlamlı olarak yüksek olduğu görülmektedir. Bununla birlikte hastaların HMGB1 düzeyleri ise hastanın atak durumuna göre farklılık göstermemektedir. HMGB1 düzeyi genel olarak akut inflamasyonun geç fazında yükselme eğilimindedir (114). Atak sırasındaki hastalarda yüksek olarak tespit edilememesi hastadan kan örneği alınmasının zamanlaması ile ilgili olabilir. Bununla birlikte çalışmamızdaki atak dönemindeki hasta sayısının çok az olması da HMGB1'in AAA'lı hastaların atak dönemindeki değişimini göstermek için yeterli değildir. Daha fazla hasta sayısı

ve daha uzun takip süresi ile HMGB1'in SLE ve RA'da olduğu gibi AAA hastalarında gerek atak gerekse kronik tedavide bir hedef olarak kullanılıp kullanılmayacağı ortaya çıkarılabilir.

Güneş ve arkadaşları (255) AAA'lı hastalarda böbrek hasarının devam eden düşük düzeyli inflamasyon ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında böbrek hasarının göstergesi olarak mikroalbuminüri değeri kullanıldı. Biz de çalışmamızda HMGB1'in AAA'lı hastalarda böbrekler üzerine etkisini olup olmadığını araştırmak için idrar mikroalbumin düzeyleri ile kıyasladık. Her ne kadar çalışmamızda HMGB1 devam eden subklinik inflamasyon için bir gösterge olarak tespit edilse de hastaların idrar mikroalbumin düzeyleri ile korele değildi. Çalışmamızdaki hiçbir hastanın patolojik düzeyde mikroalbuminürisi mevcut değildi. Bu nedenle HMGB1 ile korelasyon tespit edilememiş olabilir. Zira böbrek tutulumu yapabilen kronik inflamatuvar çok sayıda hastalıkta HMGB1'in prognostik önemi olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (248,249). Çalışmamızdaki hastaların uzun dönem takipleri ile AAA hastalığı ve HMGB1 arasındaki prognostik ilişkinin daha ayrıntılı şekilde açıklanabileceğine inanıyoruz.

Sonuç olarak çalışmamızda AAA'lı hastalarda tedavi altında dahi hücrel stres ve subklinik inflamasyonun devam ettiğini gösteren HMGB1 düzeyleri yüksek bulundu. Bu bulguların hastalığın klinik gidiş, prognoz ve tedavisine yönelik katkılarının nasıl olacağı konusunda daha kapsamlı ve daha çok hasta sayısı içeren, ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızdaki AAA hastalarının kız erkek oranını 1/1,2 olarak bulduk. Hasta grubumuzun cinsiyet dağılımı literatüre benzer şekildeydi.
2. Çalışmadaki 57 hastanın %57,9'unda aile hikayesi, %10,5'inde ise ailede akraba evliliği mevcuttu. Literatüre göre çalışmamızda akraba evliliği sıklığı daha az iken, aile hikayesi oranı Türkiye'de yapılan çalışmalara göre daha yüksekti.
3. Hastalarımızın ailesel kökenleri incelendiğinde literatüre uygun olarak hastalarımız çoğunluğu orta, batı Anadolu ve Karadeniz bölgelerinden gelmekteydi. Hastaların kökeni ile mutasyonları ve HMGB1 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki mevcut değildi.
4. AAA hastalarının oluşturduğu grup ile kontrol grubumuz arasında yaş, vücut ağırlığı ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark yoktu. Çalışmaya dahil edilen hastalar ile kontrol grubumuz yaş, cinsiyet ve kilo açısından benzer bulundu.
5. Hastalarımızın tümünde MEFV geninde en az bir alele mutasyonu mevcuttu. Hastaların %33'ünde homozigot M694V mutasyonu varken, %46'sında birleşik heterozigot mutasyon, %21'inde de heterozigot mutasyonlar mevcuttu. Çalışma grubunda M694V mutasyonu en sık görülen mutasyon olarak bulundu. Literatürde de M694V, AAA hastalarında en sık görülen mutasyondur.
6. Çalışmamızdan çıkartılan en önemli sonuç; kontrol grubu ile AAA hastaları karşılaştırıldığında, AAA'lı hastalarda HMGB1 düzeyinin yüksek bulunmasıydı. Bu bulgudan AAA'lı hastalarda hücresel düzeyde stres ve inflamasyonun atak dışı dönemlerde de devam ettiği ve hastaların serum HMGB1 düzeyinin devam eden subklinik inflamasyonun belirteci olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.
7. Çalışmamızda AAA hastalarının HMGB1 düzeylerinin, hastalığın izlem süresi, başlangıç yaşı, hastanın yaşı, cinsiyeti, kilosu ile aile hikayesinin ve akraba evliliğinin olmasıyla ilişkisi olmadığı tespit edildi. Buna göre hastaların HMGB1 düzeylerinin hastaların demografik özelliklerinden etkilenmediği sonucuna varıldı.
8. Çalışmadaki hastaların kullanmakta olduğu kolşisin dozları ile HMGB1 arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilemedi. Kolşisin AAA hastalarında her ne kadar atak sıklığını ve komplikasyonları azaltıyor olsa da hastalarda ataksız dönemlerde de mevcut olduğu gösterilen subklinik inflamasyon üzerine etkisinin sınırlı olabileceği düşünüldü.

9. Çalışmadaki hastalardan 5 tanesi atak sırasında kalan 52 tanesi ise atak dışı sürede çalışıldı. Atakta olan ve ataksız dönemde olan hastaların HMGB1 düzeyleri benzer bulundu. Her ne kadar bu sonuç HMGB1 düzeyinin ataktan etkilenmediğini düşündürse de çalışmamızda ataklı hasta sayısının çok az olması nedeniyle bu konuda yorum yapmanın çok sağlıklı olmayacağı düşünüldü.
10. Hastalarımızı mutasyonlarına göre gruplayarak yaptığımız analizlerde; HMGB1 düzeyi ile hastanın mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemedi. M694V mutasyonunun varlığına göre de HMGB1 düzeyleri değişmemektedir. Gerek aile hikayesinden gerekse gösterilmiş hiçbir mutasyon ile HMGB1 düzeylerinin ilişkili olmaması; AAA'lı hastalarda HMGB1 düzeyinin genetik zeminden bağımsız olarak sadece inflamasyonun düzeyini gösterebileceği düşünüldü.
11. Hastaların HMGB1 düzeyi ile daha önce subklinik inflamasyon göstergesi olabileceği literatürde belirtilmiş olan RDW ve Nötrofil/Lenfosit oranı ile anlamlı bir korelasyon mevcutken, MPV ve CRP ile ilişkisi saptanmadı.
12. Subklinik inflamasyon göstergesi olarak gerek literatürde öneriler RDW, MPV, CRP ve Nötrofil/Lenfosit oranı gibi parametrelerin, gerekse bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz HMGB1'in subklinik inflamasyon için duyarlılık ve özgüllüğünün tespit edilebileceği ve subklinik inflamasyonun hastalığın prognozu için nasıl bir öneme sahip olduğunun detaylandırılabilceği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Ozen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, Saatçı U, Bakkaloglu A, Koroglu E et al. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol* 1998; 24:45-9
2. Turkish FMF study group. Familial Mediterranean fever in Turkey; results of a nationwide study. *Medicine* 2005; 84, 1-11.
3. International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the Roret gene family cause familial Mediterranean fever. *Cell* 1997; 90:797-807.
4. French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nature genetics* 1997; 17:25-31.
5. Tidow N, Chen X, Müller C, et al. Hematopoietic-specific expression of MEFV, the gene mutated in familial Mediterranean fever, and subcellular localization of its corresponding protein, piroin. *Blood* 2000;95:1451.
6. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet*. 1998; 351: 659-64.
7. Tunca M, Kirkali G, Soytürk M, Akar S, Pepys MB, Hawkins PN (1999) Acute phase response and evolution of familial Mediterranean fever. *Lancet* 353(9162): 1415
8. Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapçopur O, Yazici H (2002) Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 61(1):79-81
9. Ahsen A, Ulu MS, Yuksel S et al: As a new inflammatory marker for familial Mediterranean fever: neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Inflammation*, 2013; 36(6): 1357–62
10. Yılmaz E, Özen S, Balcı B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, ve ark. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* 2001; 9:553-555.
11. Sakalli H, Kal O: Mean platelet volume as a potential predictor of proteinuria and amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol*, 2013; 32(8): 1185–90
12. Akbas EM, Demirtas L, Ozcicek A et al: Association of epicardial adipose tissue, neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio with diabetic nephropathy. *Int J Clin Exp Med*, 2014; 7(7): 1794–801
13. Uslu AU, Deveci K, Korkmaz S et al: Is neutrophil/lymphocyte ratio associated with subclinical inflammation and amyloidosis in patients with familial Mediterranean fever? *Biomed Res Int*, 2013; 2013: 185317
14. Bilginer Y, Akpolat T, Ozen S: Renal amyloidosis in children. *Pediatr Nephrol*, 2011;

26(8): 1215–27

15. Janeway CA. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* (1989) 54(Pt 1):1–13. doi:10.1101/SQB.1989.054.01.003
16. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* (1994) 12:991–1045.
17. Vénéreau E, Ceriotti C and Bianchi ME (2015) DAMPs from cell death to new life. *Front. Immunol.* 6:422. doi: 10.3389/fimmu.2015.00422
18. Pisetsky D. (2011) Cell death in the pathogenesis of immune- mediated diseases: The role of HMGB1 and DAMP- PAMP complexes. *Swiss Med Wkly* 141: w13256. doi: 10.4414/smw.2011.13256 PMID: 21877298
19. Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, Billiar TR, Tsung A (2008) HMGB1: endogenous danger signaling. *Mol Med* 14:476–484
20. de Haan JJ, Smeets MB, Pasterkamp G, Arslan F (2013) Danger signals in the initiation of the inflammatory response after myocardial infarction. *Mediators Inflamm* 2013:206039
21. Kokkola R, Sundberg E, Ulfgren AK, Palmblad K, Li J, Wang H et al. High mobility group box chromosomal protein 1: a novel proinflammatory mediator in synovitis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2598–2603.
22. Popovic K, Ek M, Espinosa A, Padyukov L, Harris HE, Wahren-Herlenius M et al. Increased expression of the novel proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1 in skin lesions of patients with lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52:3639–3645.
23. Onen F. Familial Mediterranean Fever. *Rheumatol Int.* 2006 Apr;26(6):489-96
24. Yalçinkaya F, Çakar N, Mısırlıoğlu M, et al. Phenotype genotype correlation in a large group of Turkish patients with Familial Mediterranean Fever: Evidence for mutation independent amyloidosis. *Rheumatology.* 2000;39:67-72.
25. Akin H, Onay H, Turker E, Cogulu O, Ozkinay F. MEFV mutations in patients with familial Mediterranean fever from the Aegean region of Turkey. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 93-98.
26. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med* 1945;23:1-21.
27. Mamou H. La Maladie Periodique. *L'Expansion Scientifique Française.* Paris,1956.
28. Heller H, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean Fever. *Arch Int Med* 1958; 102:50
29. Arısoy N, Kasapçopur Ö, Sever L, Çalışkan S, Yazıcı H, Özdoğan H. Familial Mediterranean Fever in Turkish Children, In: *First International conference on familial Mediterranean fever proceedings book, London and Tel Aviv: Freund 1997; 168-172.*

30. Hayashi A, Suzuki T, Shimizu A, Yamamara Y. Periodic fever suppressed by reserpine. *Lancet* 1976;1 :592-9.
31. Matzner Y, Abedat S, Shapiro E, Eisenberg S, Bar-Gil-Shitrit A, Stepensky P, ve ark. Expression of the familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures. *Blood* 2000; 96: 727-731.
32. Shohat M, Korenberg JR, Schwabe AD, Rottern. Hypothesis: Familial Mediterranean Fever-a genetic disorder of the lipocortin family? *Am J Med genet* 1989;34:163-7.
33. Diaz A, Hu C, Kastner DL, Schaner P, Reginato AM, Richards N, Gumucio DL. Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: a prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial Mediterranean fever. *Arthritis and Rheumatism* 2004; 50: 3679-3689.
34. Matzner Y, Abedat S, Shapiro E, Eisenberg S, Bar-Gil-Shitrit A, Stepensky P, ve ark. Expression of the familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures. *Blood* 2000; 96: 727-731.
35. Chae JJ, Aksentijevich I, Kastner DL. Advances in the understanding of familial Mediterranean fever and possibilities for targeted therapy. *Br J Haematology* 2009; 146(5), 467-478.
36. Jonathan S, Kastren D. FMF at the millenium clinical spectrum, ancient mutations and survey of 100 American referrals to the NIH. *Medicine* 1998;77:268-97.
37. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, et al. Fire and ice: the role of pirin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20:45-51.
38. Schaner PE, Gumucio DL. Familial Mediterranean fever in the post-genomic era: how an ancient disease is providing new insights into inflammatory pathways. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy* 2005; 4:45-52.
39. Centola M, Wood G, Frucht D M, et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood* 2000; 95:3223-31.
40. Chae JJ, Komarrow HD, Cheng J, et al. Targeted disruption of pirin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Molecular Cell* 2004; 11:591-604.
41. OMIM veri tabanı, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
42. Shoham NG, Centola M, Mansfield E, et al. Pirin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same

- pathway. PNAS 2003; 100:13501-6.
43. Benedicte PY, Christian S, Patrick A, et al. Siva-1 and an alternative splice form lacking the death domain, Siva-2 similarly induce apoptosis in T lymphocytes via a caspase dependent mitochondrial pathway. *The Journal of Immunology* 2004; 172:4008-17.
 44. Prasad KVS, Zhaohui AO, Yoosik Y, et al. CD27, a member of the tumor necrosis factor receptor family, induces apoptosis and binds to Siva, a proapoptotic protein. PNAS 1997; 94.
 45. Ting JP, Kastner DL, Hoffman HM. CATERPILLERS, pirin and hereditary immunological disorders. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(3): 183- 195.
 46. Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, Kastner DL. The B30.2 domain of pirin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(26); 9982-9987.
 47. <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/>
 48. Ben-Chetrit E, Touitou I. Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum* 2009; 61(10): 1447-1453.
 49. Jarjour RA. Familial Mediterranean fever in Syrian patients: MEFV gene mutations and genotype-phenotype correlation. *Mol Biol Rep* 2010;37(1): 1-5
 50. Touitou I. Standardized testing for mutations in familial Mediterranean fever. *Clin Chem* 2003; 49(11): 1781-1782.
 51. Akar N, Mısırlıoğlu M, Yalçmkaya F, Akar E, Çakar N, Turner N, Akçakut M, Tastan H, Matzner Y. MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean Fever. *Hum Mutat.* 2000 Jan;15(1):118-9.
 52. Ben-Chetrit E. Familial Mediterranean Fever (FMF) and renal AA amyloidosisphenotype-genotype correlation, treatment and prognosis. *J Nephrol.* 2003 May-Jun;16(3):431-4.
 53. Tekin M, Yalçmkaya F, Çakar N, et al. MEFV mutations in multiplex families with Familial Mediterranean Fever: Is a particular genotype necessary for amiloidosis? *Clin Genet* 2000;57:430-437.
 54. Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the litterature. *Am J Med* 1967; 43(2): 227-253.
 55. Bakkaloglu A. Familial Mediterranean Fever. *Pediatr Nephrol* 2003; 18 (9): 853-859
 56. Koşan C, Ailevi Akdeniz Ateşine Tanısal Yaklaşım AÜTD 2003; 35: 1-6
 57. Livneh A, Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in Familial Mediterranean Fever. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2000;14:477-498
 58. Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, Kondeatis E, Madanat W, Zureikat H, Fayyad F.

- Marr JE, Kanawati CA, Stanford MR. HLA and tumour necrosis factor (TNF) polymorphisms in ocular Behçet's disease. *Tissue Antigens* 54: 264-272, 1999
59. La Regina M, Nucera G, Diaco M, Procopio A, Gasbarrini G, Notarnicola C, et al. Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy. *Eur J Hum Genet* 2003; 11(1): 50-56.
 60. Samuels J, Aksentijevich I, Torlsyan Y, Centola M, Deng Z, Sood R, Kastner DL. Familial Mediterranean Fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health. *Medicine (Baltimore)* 1998; 77(4): 268- 297.
 61. Mor A, Gal R, Livneh A. Abdominal and digestive system associations of Familial Mediterranean Fever. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(12): 2594-2604
 62. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Migdal A, Sohar E, ve ark. The changing face of Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26(3): 612-627.
 63. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001;9 (7): 473-483.
 64. Fonnesu C, Cerquaglia C, Giovinale M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, ve ark. Familial Mediterranean fever: A review for clinical management. *Joint Bone Spine* 2009; 76(3): 227-233
 65. Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, ve ark. Turkish FMF study group. Familial Mediterranean Fever in Turkey: results of a nationwide study. *Medicine* 2005; 84(1): 1-11.
 66. Topaloglu R, Ozaltin F, Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Besbas N, Bakkaloglu A. E148Q is a disease-causing MEFV mutation: a phenotypic evaluation in patients with familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(5): 750-752.
 67. Yilmaz R, Ozer S, Ozyurt H, Erkorkmaz U, Sahin S. Familial Mediterranean fever gene mutations in the inner northern region of Turkey and genotype-phenotype correlation in children. *J Paediatrics Child Health* 2009; 45(11): 641-645.
 68. Ruhan Dusunsel R, Dursun I, Gunduz Z, Poyrazoglu MH, Gurgoze MK, Dundar M. Genotype – phenotype correlation in children with familial Mediterranean fever in a Turkish population. *Pediatr Int* 2008; 50(2); 208-212.
 69. Cefle A, Kamali S, Sayarlioglu M, Inanc M, Ocal L, Aral O, ve ark. A comparison of clinical findings of familial Mediterranean fever patients with and without amyloidosis. *Rheumatol Int* 2005; 25(6): 442-446.
 70. Dewalle M, Domingo C, Rozenbaum M, Ben-Chétrit E, Cattan D, Bernot A, ve ark.

- Phenotype-genotype correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF). *Eur J Hum Genet* 1998; 6(1): 95-97.
71. Yalçinkaya F, Özkaya N, Turner N, et al. Protracted arthritis of Familial Mediterranean Fever (an unusual complication). *Br J Rheumatol* 1997;36:1228-30
 72. Uthman I, Hajj-Ali RA, Arayssi T, Masri AF, Nasr F. Arthritis in familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 2001; 20(4): 145-148.
 73. Brik R, Shinawi M, Kasinetz L, Gershoni-Baruch R. The Musculoskeletal Manifestations of Familial Mediterranean Fever in Children Genetically Diagnosed With the Disease. *Arthritis & Rheumatism* 2001; 44(6): 1416- 1419.
 74. Langevitz P, Zemer D, Livneh A, Shemer J, Pras M. Protracted febrile myalgia in patients with familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* 1994;21(9): 1708-1709.
 75. Örün E, Yalçinkaya F, Türk Tıbbında Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı ve Amiloidoz Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi I Official Journal of the Turkish Society of Nephrology 2003;12
 76. Ozen S, Ben-Chetrit E, Bakkaloglu A, Gur H, Tinaztepe K, Calguneri M, ve ark. Polyarteritis nodosa in patients with familial Mediterranean fever (FMF): a concomitant disease or a feature of FMF? *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30(4): 281-287.
 77. Özdoğan H, Arısoy N, Kasapçopur O et al. Vasculitis in Familial Mediteranean Fever. *J Rheumatol* 1997;24:323-7.
 78. Ben-Chetrit E, Yazici H. Thoughts on the proposed links between Behcet's disease and familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20(4): 1-2.
 79. Schwartz T, Langevitz P, Zemer D, Gazit E, Pras M, Livneh A. Behçet's disease in Familial Mediterranean fever: characterization of the association between the two diseases. *Semin Arthritis Rheum* 2000; 29(5): 286-295.
 80. Grateau G. The relation between familial Mediterranean fever and amyloidosis. *Curr Opin in Rheum* 2000; 12(1): 61-64.
 81. Yalcinkinkaya F, Tekin M, Cakar N, Akar E, Akar N, Tumer N. Familial Mediterranean fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients. *QJM* 2000; 93(10): 681-684.
 82. Saatci Ü, Özen S, Özdemir S, Bakkaloglu A, Besbas N, Topaloglu R, ve ark. Familial Mediterranean fever in children: report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amyloidosis. *Eur J Pediatr* 1997; 156(8): 619-623.
 83. Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Roudot-Thoraval F, Geneviève D, Mndjoyan E, ve ark. Identification of MEFV independent modifying genetic factors for FMF. *Am J Hum*

Genet 2000; 67(5): 1136-1143.

84. Zaks N, Shinar Y, Padeh S, Lidar M, Mor A, Tokov I, ve ark. Analysis of the three most common MEFV mutations in 412 patients with familial Mediterranean fever. *Isr Med Assoc J* 2003; 5(8): 585-588.
85. Shinar Y, Livneh A, Langevitz P, Zaks N, Aksentijevich I, Koziol DE, ve ark. Genotype-phenotype assessment of common genotypes among patients with FMF. *J Rheumatol* 2000; 27(7): 1703-1707.
86. Touitou I, Picot MC, Domingo C, Notarnicola C, Cattan D, Demaille J, ve ark. The MICA region determines the first modifier locus in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2001; 44(1): 163-169.
87. Gershoni-Baruch R, Brik R, Shinawi M, Livneh A. The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet* 2002; 10(2): 145-149.
88. Yalçinkaya F, Akar N, Mısırlıoğlu M. Familial Mediterranean fever amyloidosis and the Val726 Ala mutation. *N Engl J Med* 1998; 338(14): 993-994.
89. Majeed HA, Ghandour K, Shahin HM. The acute scrotum in Arab children with familial Mediterranean fever. *Pediatr Surg Int* 2000; 16(1- 2): 72-74.
90. Pras M, Kastner DL. Familial Mediterranean fever. In: Klippel JH, Dieppe PA eds. *Rheumatology*, 2nd ed, London: Mosby, 2000; 5: 23.1- 4.
91. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, ve ark. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40 (10): 1879-1885.
92. Yalçinkaya F, Ozen S, Ozçakar ZB, Aktay N, Cakar N, Düzova A ve ark. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Apr;48(4):395-8.
93. Grateau G, Pecheux C, Cazeneuve C, Cattan D, Dervichian M, Goossens M, ve ark. Clinical versus genetic diagnosis of familial Mediterranean fever. *QJM* 2000; 93(4): 223-229.
94. Konstantopoulos K, Michael S, Kanta A, Pecheux C, Grateau J, Helioti H, ve ark. Renal amyloidosis as a first manifestation of familial Mediterranean fever. *Scand J Rheumatol* 2000; 29(2):129-130.
95. Nir-Paz R, Ben-Chetrit E, Pikarsky E, Hassin D, Hasin Y, Chajek- Shaul T. Unusual presentation of familial Mediterranean fever: role of genetic diagnosis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59(10): 836-838.
96. Mor A, Shinar Y, Zaks N, Langevitz P, Chetrit A, Shtrasburg S, Rabinovitz E, Livneh A.

- Evaluation of disease severity in Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Aug;35(1):57-64.
97. Baskın E, Saatçi Ü. Familial Mediterranean Fever. *Current Rheumatology Reviews*, 2006; 2: 101-108.
 98. Simon A, van der Meer JWM, Drenth JP. Familial Mediterranean Fever a not so unusual cause of abdominal pain. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 199-213.
 99. Özkan E, Okur Ö, Ekmekçi A, et al. A new approach to the treatment of periodic fever. *Med Bull Istanbul* 1972;5:44-49.
 100. Goldfinger SE. Colchicine for Familial Mediterranean Fever. *N Engl J Med* 1972; 287: 1302.
 101. Ben-Chetrit E, Bergmann S, Sood R. Mechanism of the antiinflammatory effect of colchicine in rheumatic diseases: a possible new Outlook through microarray analysis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(3): 274-282.
 102. Rigante D, La Torraca I, Avallone L, Pualiese AL, Gaspari S, Stabile A. The pharmacologic basis of treatment with colchicine children with familial Mediterranean fever. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10(4): 173-178.
 103. Kallnich T, Haffner D, Niehues T. et al. Colchicine use in children and adolescents with familial mediterranean fever: Literature review and consensus statement. *Pediatrics* 2007; 119:474-483.
 104. Zemer D, Livneh A, Langevitz P. Reversal of the nephrotic syndrome by colchicine in amyloidosis of familial mediterranean fever. *Ann Intern Med* 1992; 116: 426.
 105. Livneh A, Zemer D, Langevitz P, Laor A, Sohar E, Pras M. Colchicine treatment of AA amyloidosis of familial mediterranean fever. An analysis of factors affecting outcome. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1804-11.
 106. Akgul O, Kilic E, Kilic G, Ozgocmen S. Efficacy and Safety of Biologic Treatments in Familial Mediterranean Fever. *Am J Med Sci* 2012; 0(0):1-5.
 107. Seyahi E, Özdoğan H, Masatlıoğlu S, Yazıcı H. Successful treatment of familial mediterranean fever attack with talidomide in a colchicine resistant patient. *Clin Exp Rheumatol.* 2002; 2 (4 suppl 26): 43-44.
 108. Daysal S, Akcıl G, Göker B, Haznedaroğlu S, Ercan N, Öztürk MA. Infliximab therapy in a patient with familial mediterranean fever and chronic hip arthritis *Arthritis Rheum.* 2005;53:146-147.
 109. Tsung A, Tohme S, Billar TR. High-mobility group box-1 in sterile inflammation. *J Intern Med.* 2014 Nov;276(5):425-43.

110. Medawar PB, Woodruff MF. The induction of tolerance by skin homografts on newborn rats. *Immunology* 1958; 1: 27– 35.
111. Medawar PB. Immunological tolerance. *Science* 1961; 133: 303–6.
112. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002; 296: 298–300.
113. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335–76.
114. Andersson U, Tracey KJ. HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 139–62.
115. Wang H, Bloom O, Zhang M et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248–51.
116. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* (2002) 418:191–5.
117. Bianchi ME, Agresti A. HMG proteins: dynamic players in gene regulation and differentiation. *Curr Opin Genet Dev* (2005) 15:496–506.
118. Lu B, Wang C, Wang M, Li W, Chen F, Tracey KJ, et al. Molecular mechanism and therapeutic modulation of high mobility group box 1 release and action: an updated review. *Expert Rev Clin Immunol* (2014) 10:713–27.
119. Bianchi ME, Falciola, L., Ferrari, S., Lilley, D.M., 1992. The DNA binding site of HMG1 protein is composed of two similar segments (HMG boxes), both of which have counterparts in other eukaryotic regulatory proteins. *EMBO J.* 11 (3), 1055–1063.
120. Kang et al. HMGB1 in health and disease, *Molecular Aspects of Medicine* 40 (2014) 1–116.
121. Li, J., Kokkola, R., Tabibzadeh, S., Yang, R. et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1. *Mol. Med.* 2003;9 (1–2), 37–45.
122. Gong W, Li, Y., Chao, F., Huang, G., He, F., 2009. Amino acid residues 201–205 in C-terminal acidic tail region plays a crucial role in antibacterial activity of HMGB1. *J. Biomed. Sci.* 16, 83.
123. Stros M., 1998. DNA bending by the chromosomal protein HMG1 and its high mobility group box domains. Effect of flanking sequences. *J. Biol. Chem.* 273 (17), 10355–10361.
124. David S. Pisetsky. The Complex Role of DNA, Histones and HMGB1 in the Pathogenesis of SLE Autoimmunity. 2014 December; 47(8): 487–493.
125. Bustin M, Lehn DA, Landsman D. Structural features of the HMG chromosomal proteins and their genes. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1049: 231–43.
126. Bustin M, Reeves R. High-mobility-group chromosomal proteins: architectural

- components that facilitate chromatin function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1996; 54: 35–100.
127. Boonyaratanakornkit V, Melvin V, Prendergast P et al. High-mobility group chromatin proteins 1 and 2 functionally interact with steroid hormone receptors to enhance their DNA binding in vitro and transcriptional activity in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 4471–87.
 128. Melvin VS, Edwards DP. Coregulatory proteins in steroid hormone receptor action: the role of chromatin high mobility proteins HMG-1 and -2. *Steroids* 1999; 64: 576–86.
 129. Celona B, Weiner A, Di Felice F et al. Substantial histone reduction modulates genomewide nucleosomal occupancy and global transcriptional output. *PLoS Biol* 2011; 9: e1001086.
 130. Yang H, Ochani M, Li J et al. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group box 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 296–301.
 131. Schroter H, Bode J. The binding sites for large and small high-mobility-group (HMG) proteins. Studies on HMG-nucleosome interactions in vitro. *Eur J Biochem* 1982; 127: 429–36.
 132. Nightingale K, Dimitrov S, Reeves R, Wolffe AP. Evidence for a shared structural role for HMG1 and linker histones B4 and H1 in organizing chromatin. *EMBO J* 1996; 15: 548–61.
 133. Das D, Scovell WM. The binding interaction of HMG-1 with the TATA-binding protein/TATA complex. *J Biol Chem* 2001; 276: 32597–605.
 134. Jayaraman L, Moorthy NC, Murthy KG, Manley JL, Bustin M, Prives C. High mobility group protein-1 (HMG-1) is a unique activator of p53. *Genes Dev* 1998; 12: 462–72.
 135. Jiao Y, Wang HC, Fan SJ. Growth suppression and radiosensitivity increase by HMGB1 in breast cancer. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 1957–67.
 136. Melvin VS, Harrell C, Adelman JS, Kraus WL, Churchill M, Edwards DP. The role of the C-terminal extension (CTE) of the estrogen receptor alpha and beta DNA binding domain in DNA binding and interaction with HMGB. *J Biol Chem* 2004; 279: 14763–71.
 137. Lange SS, Reddy MC, Vasquez KM. Human HMGB1 directly facilitates interactions between nucleotide excision repair proteins on triplex-directed psoralen interstrand crosslinks. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 865–72.
 138. Yuan F, Gu L, Guo S, Wang C, Li GM. Evidence for involvement of HMGB1 protein in human DNA mismatch repair. *J Biol Chem* 2004; 279: 20935–40.
 139. Zhang Y, Yuan F, Presnell SR et al. Reconstitution of 50-directed human mismatch repair

- in a purified system. *Cell* 2005; 122: 693–705.
140. Lange SS, Vasquez KM. HMGB1: the jack-of-all-trades protein is a master DNA repair mechanic. *Mol Carcinog* 2009; 48: 571–80.
 141. Willingham SB, , Allen IC, Bergstralh DT et al. NLRP3 (NALP3, Cryopirin) facilitates in vivo caspase-1 activation, necrosis, and HMGB1 release via inflammasome-dependent and -independent pathways. *J Immunol* 2009; 183: 2008-15.
 142. Tang D, Kang R, Livesey KM, Zeh HJ 3rd, Lotze MT. High mobility group box 1 (HMGB1) activates an autophagic response to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 2185–95.
 143. Tang D, Kang R, Cheh CW et al. HMGB1 release and redox regulates autophagy and apoptosis in cancer cells. *Oncogene* 2010; 29: 5299–310.
 144. Tang D, Kang R, Livesey KM et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy. *J Cell Biol* 2010; 190: 881–92.
 145. Yanai H, Matsuda A, An J et al. Conditional ablation of HMGB1 in mice reveals its protective function against endotoxemia and bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 20699–704.
 146. Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, Tang D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011; 18: 571–80.
 147. Tang D, Kang R, Livesey KM et al. High-mobility group box 1 is essential for mitochondrial quality control. *Cell Metab* 2011; 13: 701–11.
 148. Widlak P, Garrard WT. Discovery, regulation, and action of the major apoptotic nucleases DFF40/CAD and endonuclease G. *J Cell Biochem* 2005; 94: 1078–87.
 149. Tamura T, Yanai H, Savitsky D, Taniguchi T. The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis. *Annu Rev Immunol* 2008; 26: 535–84.
 150. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; 11: 373–84.
 151. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449: 819–26.
 152. Yanai H, Ban T, Wang Z et al. HMGB proteins function as universal sentinels for nucleic-acid-mediated innate immune responses. *Nature* 2009; 462: 99–103.
 153. Merenmies J, Pihlaskari R, Laitinen J, Wartiovaara J, Rauvala H. 30-kDa heparin-binding protein of brain (amphoterin) involved in neurite outgrowth. Amino acid sequence and localization in the filopodia of the advancing plasma membrane. *J Biol Chem.* 1991; 266(25):16722–16729.

154. Fuentes E, Rojas A, Palomo I. Role of multiligand/RAGE axis in platelet activation. *Thromb Res.* 2014; 133(3):308–314.
155. Passalacqua M, Zicca A, Sparatore B, Patrone M, Melloni E, Pontremoli S. Secretion and binding of HMGB1 protein to the external surface of the membrane are required for murine erythroleukemia cell differentiation. *FEBS Lett.* 1997; 400(3):275–279.
156. Hanspal M, Hanspal JS. The association of erythroblasts with macrophages promotes erythroid proliferation and maturation: a 30-kD heparin-binding protein is involved in this contact. *Blood.* 1994; 84(10):3494–3504.
157. Parkkinen J, Rauvala H. Interactions of plasminogen and tissue plasminogen activator (t-PA) with amphoterin. Enhancement of t-PA-catalyzed plasminogen activation by amphoterin. *J Biol Chem.* 1991; 266(25):16730–16735.
158. Ciucci A, Gabriele I, Percario ZA, Affabris E, Colizzi V, Mancino G. HMGB1 and cord blood: its role as immuno-adjuvant factor in innate immunity. *PLoS ONE.* 2011; 6(8):e23766.
159. Tsung A, Sahai R, Tanaka H et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia- reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135–43.
160. Qin S, Wang H, Yuan R et al. Role of HMGB1 in apoptosis- mediated sepsis lethality. *J Exp Med* 2006; 203: 1637–42.
161. Bell CW, Jiang W, Reich CF 3rd, Pisetsky DS. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291: C1318–25.
162. Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8: 195–202.
163. Tian J, Avalos AM, Mao SY, et al. Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat Immunol* 2007; 8: 487–96.
164. Chen GY, Tang J, Zheng P, Liu Y. CD24 and Siglec-10 selectively repress tissue damage-induced immune responses. *Science* 2009; 323: 1722–5.
165. Abeyama K, Stern DM, Ito Y et al. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. *J Clin Invest* 2005; 115: 1267–74.
166. Antonie DJ, Harris HE, Andersson U, Tracey KJ, Bianchi ME. A systematic nomenclature for the redox states of high mobility group box (HMGB) proteins. *Mol Med* (2014) **20**:135–7.
167. Ito T, Kawahara K, Nakamura T et al. High-mobility group box 1 protein promotes

- development of microvascular thrombosis in rats. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 109–16.
168. Venereau E, Casalgrandi M, Schiraldi M et al. Mutually exclusive redox forms of HMGB1 promote cell recruitment or proinflammatory cytokine release. *J Exp Med* 2012; 209: 1519–28.
169. Hoppe G, Talcott KE, Bhattacharya SK, Crabb JW, Sears JE. Molecular basis for the redox control of nuclear transport of the structural chromatin protein Hmgb1. *Exp Cell Res* 2006; 312: 3526–38.
170. Yang H, Lundback P, Ottosson L et al. Redox modification of cysteine residues regulates the cytokine activity of high mobility group box-1 (HMGB1). *Mol Med* 2012; 18: 250–9.
171. Schiraldi M, Raucci A, Munoz LM et al. HMGB1 promotes recruitment of inflammatory cells to damaged tissues by forming a complex with CXCL12 and signaling via CXCR4. *J Exp Med* 2012; 209: 551–63.
172. Hori O, Brett J, Slattery T et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a cellular binding site for amphoterin. Mediation of neurite outgrowth and co-expression of rage and amphoterin in the developing nervous system. *J Biol Chem* 1995; 270: 25752–61.
173. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. RAGE: therapeutic target and biomarker of the inflammatory response—the evidence mounts. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 505–12.
174. Huttunen HJ, Fages C, Kuja-Panula J, Ridley AJ, Rauvala H. Receptor for advanced glycation end products-binding COOH-terminal motif of amphoterin inhibits invasive migration and metastasis. *Cancer Res* 2002; 62: 4805–11.
175. Penzo M, Molteni R, Suda T et al. Inhibitor of NF-kappa B kinases alpha and beta are both essential for high mobility group box 1-mediated chemotaxis [corrected]. *J Immunol* 2010; 184: 4497–509.
176. Andersson U, Wang H, Palmblad K et al. High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 565–70.
177. Taguchi A, Blood DC, del Toro G et al. Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature* 2000; 405: 354–60.
178. Degryse B, Bonaldi T, Scaffidi P et al. The high mobility group (HMG) boxes of the nuclear protein HMG1 induce chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells. *J Cell Biol* 2001; 152: 1197–206.
179. Orlova VV, Choi EY, Xie C et al. A novel pathway of HMGB1-mediated inflammatory cell recruitment that requires Mac-1-integrin. *EMBO J* 2007; 26: 1129–39.

180. Xiang M, Yuan Y, Fan L et al. Role of macrophages in mobilization of hematopoietic progenitor cells from bone marrow after hemorrhagic shock. *Shock* 2012; 37: 518–23.
181. Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, Prince JM, Levy RM, Billiar TR. Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 2006; 26: 430–7.
182. Park JS, Svetkauskaite D, He Q et al. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem* 2004; 279: 7370–7.
183. Park JS, Gamboni-Robertson F, He Q et al. High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: C917–24.
184. Rauvala H, Rouhiainen A. RAGE as a receptor of HMGB1 (Amphoterin): roles in health and disease. *Curr Mol Med* 2007; 7: 725–34.
185. Palumbo R, Galvez BG, Pusterla T et al. Cells migrating to sites of tissue damage in response to the danger signal HMGB1 require NF-kappaB activation. *J Cell Biol* 2007; 179:33–40.
186. Kew RR, Penzo M, Habieli DM, Marcu KB. The IKKalpha-dependent NF-kappaB p52/RelB noncanonical pathway is essential to sustain a CXCL12 autocrine loop in cells migrating in response to HMGB1. *J Immunol* 2012; 188: 2380–6.
187. Campana L, Bosurgi L, Bianchi ME, Manfredi AA, Rovere-Querini P. Requirement of HMGB1 for stromal cell-derived factor-1/CXCL12-dependent migration of macrophages and dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 609–15.
188. Dumitriu IE, Bianchi ME, Bacci M, Manfredi AA, Rovere-Querini P. The secretion of HMGB1 is required for the migration of maturing dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 84–91.
189. Shin-Ae Lee, Man Sup Kwak, Sol Kim and Jeon-Soo Shin. The Role of High Mobility Group Box 1 in Innate Immunity. *Yonsei Med J* 2014;55(5):1165-1176.
190. Gardella S, Andrei C, Ferrera D et al. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway. *EMBO Rep* 2002; 3: 995–1001.
191. Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion. *J Immunol* 2006; 177: 7889–97.
192. Ito I, Fukazawa J, Yoshida M. Post-translational methylation of high mobility group box 1 (HMGB1) causes its cytoplasmic localization in neutrophils. *J Biol Chem* 2007; 282: 16336–44.
193. Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, Ferrera D, Porto A, Bachi A, et al. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J*

2003;22:5551-60.

194. Helena Erlandsson Harris and Ulf Andersson , The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator, *Eur. J. Immunol.* 2004. *34*: 1503–1512.
195. Oh YJ, Youn JH, Ji Y, Lee SE, Lim KJ, Choi JE, et al. HMGB1 is phosphorylated by classical protein kinase C and is secreted by a calcium-dependent mechanism. *J Immunol* 2009;182:5800-9
196. Bustin M. Revised nomenclature for high mobility group (HMG) chromosomal proteins. *Trends Biochem Sci* 2001; 26:152–3.
197. Muller S, Scaffidi P, Degryse B et al. New EMBO members' review: the double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal. *EMBO J* 2001; 20: 4337–40.
198. Kazama H, Ricci JE, Herndon JM, Hoppe G, Green DR, Ferguson TA. Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobilitygroupbox-1 protein. *Immunity*2008; 29:21–32.
199. Lu B, Wang H, Andersson U, Tracey KJ. Regulation of HMGB1 release by inflammasomes. *Protein Cell.* 2013 Mar;4(3):163-7.
200. Franchi, L., Muñoz-Planillo, R., and Núñez, G. (2012) Sensing and reacting to microbes through the inflammasomes. *Nat Immunol* 13, 325–332.
201. Strowig, T., Henao-Mejia, J., Elinav, E., and Flavell, R. (2012). Inflammasomes in health and disease. *Nature* 481, 278–286.
202. Rathinam, V.A., Vanaja, S.K., and Fitzgerald, K.A. (2012). Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol* 13, 333–332.
203. Lamkanfi, M., Sarkar, A., Vande Walle, L., Vitari, A.C., Amer, A.O., Wewers, M.D., Tracey, K.J., Kanneganti, T.D., and Dixit, V.M. (2010). Inflammasome-dependent release of the alarmin HMGB1 in endotoxemia. *J Immunol* 185, 4385–4392.
204. Wen, H., Ting, J.P., and O'Neill, L.A. (2012). A role for the NLRP3 inflammasome in metabolic diseases--did Warburg miss inflammation. *Nat Immunol* 13, 352–357.
205. Lu, B., Nakamura, T., Inouye, K., Li, J., Tang, Y., Lundbäck, P., ValdesFerrer, S.I., Olofsson, P.S., Kalb, T., and Roth, J., et al. (2012). Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature* 488, 670–674.
206. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev*

Immunol 2010;10:826-37.

207. Mbitikon-Kobo FM, Vocanson M, Michallet MC, Tomkowiak M, Cottalorda A, Angelov GS, et al. Characterization of a CD44/CD122int memory CD8 T cell subset generated under sterile inflammatory conditions. *J Immunol* 2009;182:3846-54.
208. Dumitriu IE, Baruah P, Valentinis B, Voll RE, Herrmann M, Nawroth PP, et al. Release of high mobility group box 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products. *J Immunol* 2005;174:7506-15.
209. Yang D, Chen Q, Yang H, Tracey KJ, Bustin M, Oppenheim JJ. High mobility group box-1 protein induces the migration and activation of human dendritic cells and acts as an alarmin. *J Leukoc Biol* 2007;81:59-66.
210. Semino C, Angelini G, Poggi A, Rubartelli A. NK/iDC interaction results in IL-18 secretion by DCs at the synaptic cleft followed by NK cell activation and release of the DC maturation factor HMGB1. *Blood* 2005;106:609-16.
211. Goldstein RS, Gallowitsch-Puerta M, Yang L, Rosas-Ballina M, Huston JM, Czura CJ, et al. Elevated high-mobility group box 1 levels in patients with cerebral and myocardial ischemia. *Shock* 2006;25:571-4.
212. Straino S, Di Carlo A, Mangoni A, De Mori R, Guerra L, Maurelli R, et al. High-mobility group box 1 protein in human and murine skin: involvement in wound healing. *J Invest Dermatol* 2008;128: 1545-53.
213. Mitola S, Belleri M, Urbinati C, Coltrini D, Sparatore B, Pedrazzi M, et al. Cutting edge: extracellular high mobility group box-1 protein is a proangiogenic cytokine. *J Immunol* 2006;176:12-5.
214. Zamora R, Grishin A, Wong C et al. High-mobility group box 1 protein is an inflammatory mediator in necrotizing enterocolitis: protective effect of the macrophage deactivator semapimod. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G643–52.
215. Li ZC, Cheng GQ, Hu KZ et al. Correlation of synovial fluid HMGB-1 levels with radiographic severity of knee osteoarthritis. *Clin Invest Med* 2011; 34: E298.
216. Pullerits R, Jonsson IM, Kollias G, Tarkowski A. Induction of arthritis by high mobility group box chromosomal protein 1 is independent of tumour necrosis factor signalling. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: R72.
217. Kokkola R, Li J, Sundberg E et al. Successful treatment of collagen-induced arthritis in mice and rats by targeting extracellular high mobility group box chromosomal protein activity. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2052–8.
218. Hamada T, Torikai M, Kuwazuru A et al. Extracellular highmobility group box

- chromosomal protein 1 is a coupling factor for hypoxia and inflammation in arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2675–85.
219. Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Chondrocyte innate immune myeloid differentiation factor 88-dependent signaling drives procatabolic effects of the endogenous Toll-like receptor 2/ Toll-like receptor 4 ligands low molecular weight hyaluronan and high mobility group box chromosomal protein 1 in mice. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2004–12.
220. Pullerits R, Jonsson IM, Verdrengh M et al. High mobility group box chromosomal protein 1, a DNA binding cytokine, induces arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1693–700.
221. Zetterstrom CK, Jiang W, Wahamaa H et al. Pivotal advance: inhibition of HMGB1 nuclear translocation as a mechanism for the anti-rheumatic effects of gold sodium thiomalate. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 31–8.
222. Li J, Xie H, Wen T, Liu H, Zhu W, Chen X. Expression of high mobility group box chromosomal protein 1 and its modulating effects on downstream cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2010; 37: 766–75.
223. Urbonaviciute V, Furnrohr BG, Meister S et al. Induction of inflammatory and immune responses by HMGB1-nucleosome complexes: implications for the pathogenesis of SLE. *J Exp Med* 2008; 205: 3007–18.
224. Ulfgren AK, Grundtman C, Borg K et al. Down-regulation of the aberrant expression of the inflammation mediator high mobility group box chromosomal protein 1 in muscle tissue of patients with polymyositis and dermatomyositis treated with corticosteroids. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1586–94.
225. Barkauskaite V, Ek M, Popovic K, Harris HE, Wahren-Herlenius M, Nyberg F. Translocation of the novel cytokine HMGB1 to the cytoplasm and extracellular space coincides with the peak of clinical activity in experimentally UV-induced lesions of cutaneous lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 794–802.
226. Jiang W, Pisetsky DS. Expression of high mobility group protein 1 in the sera of patients and mice with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 727–8.
227. Yoshizaki A, Komura K, Iwata Y et al. Clinical significance of serum HMGB-1 and sRAGE levels in systemic sclerosis: association with disease severity. *J Clin Immunol* 2009; 29: 180–9.
228. Hamada N, Maeyama T, Kawaguchi T et al. The role of high mobility group box1 in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008; 39: 440–7.
229. Mittal D, Saccheri F, Venereau E, Pusterla T, Bianchi ME, Rescigno M. TLR4-mediated

- skin carcinogenesis is dependent on immune and radioresistant cells. *EMBO J* 2010; 29: 2242–52.
230. Wang, H., Bloom, O., Zhang, M., Ombrellino, M., Che, J., Vishnubhakat, J. M., Frazier, A., Ivanova, S., Borovikova, L., Manogue, K. et al., HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999. 285: 248–251.
231. Ulloa, L., Ochani, M., Yang, H., Tanovic, M., Halperin, D., Yang, R., Czura, C. J., Fink, M. P. and Tracey, K. J., Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2002. 99: 12351–12356.
232. Yang, R., Gallo, D. J., Baust, J. J., Uchiyama, T., Watkins, S. K., Delude, R. L. and Fink, M. P., Ethyl pyruvate modulates inflammatory gene expression in mice subjected to hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002. 283: G212–G221.
233. Özer S, Yılmaz R, Sönmezgöz E, Karaaslan E, Taşkın S, Bütün İ, Demir O. Simple markers for subclinical inflammation in patients with Familial Mediterranean Fever. *MedSciMonit.* 2015 Jan 23;21:298-303.
234. Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, Funke B, Eichberger SN, Kaya Z, Buss S, Autschbach F, Pleger ST, Lukic IK et al (2008) Highmobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart. *Circulation* 117:3216–3226.
235. E. Sohar, J. Gafni, M. Pras, H. Heller, Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature, *Am. J. Med.* 43 (1967) 227–253.
236. G.P. Manukyan, K.A. Ghazaryan, Z.A. Ktsoyan, M.V. Tatyán, Z.A. Khachatryan, G.S. Hakobyan, V.A. Mkrtychyan, D. Kelly, A. Coutts, R.I. Aminov, Cytokine profile of Armenian patients with familial Mediterranean fever, *Clin. Biochem.* 41 (2008) 920–922.
237. S. Bagci, B. Toy, A. Tuzun, Y. Ates, M. Aslan, A. Inal, M. Gulsen, N. Karaeren, K. Dagalp, Continuity of cytokine activation in patients with familial Mediterranean fever, *Clin. Rheumatol.* 23 (2004) 333–337.
238. S. Oktem, T.U. Yavuzsen, B. Sengül, H. Akhunlar, S. Akar, M. Tunca, Levels of interleukin-6 (IL-6) and its soluble receptor (sIL-6R) in familial Mediterranean fever (FMF) patients and their first degree relatives, *Clin. Exp. Rheumatol.* 22 (2004) S34–36.
239. U. Musabak, A. Sengul, C. Oktenli, S. Pay, Z. Yesilova, L. Kenar, S.Y. Sanisoglu, A. Inal, A. Tuzun, A. Erdil, S. Bagci, Does immune activation continue during an attack-free period in familial Mediterranean fever? *Clin. Exp. Immunol.* 138 (2004) 526–533.

240. B. Colak, B. Gurlek, Z.A. Yegin, S.M. Deger, S. Elbek, H. Pasaoglu, I. Dogan, M.A. Ozturk, S. Unal, G. Guz, The relationship between the MEFV genotype clinical features, and cytokine-inflammatory activities in patients with familial mediterranean fever, *Ren. Fail* 30 (2008) 187–191.
241. S. Köklü, M.A. Oztürk, M. Balci, O. Yüksel, I. Ertenli, S. Kiraz, Interferongamma levels in familial Mediterranean fever, *J. Bone Spine Rev. Rhum.* 72 (2005) 38–40.
242. Goldstein RS, Bruchfeld A, Yang L, Qureshi AR, Gallowitsch-Puerta M, Patel NB et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway activity and High Mobility Group Box-1 (HMGB1) serum levels in patients with rheumatoid arthritis. *Mol Med.* 2007 Mar-Apr;13(3-4):210-5.
243. Hoshina T, Kusuhara K, Ikeda K, Mizuno Y, Saito M, Hara T. High mobility group box 1 (HMGB1) and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol.* 2008; 37(6):445–449.
244. Taira T, Matsuyama W, Mitsuyama H, Kawahara KI, Higashimoto I, Maruyama I, Osame M, Arimura K. Increased serum high mobility group box-1 level in Churg-Strauss syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2007; 148(2):241–247.
245. Wibisono D, Csernok E, Lamprecht P, Holle JU, Gross WL, Moosig F. Serum HMGB1 levels are increased in active Wegener's granulomatosis and differentiate between active forms of ANCA-associated vasculitis. *Annals of the rheumatic diseases.* 2010; 69(10):1888–1889.
246. Maugeri N, Franchini S, Campana L, Baldini M, Ramirez GA, Sabbadini MG, Rovere-Querini P, Manfredi AA. Circulating platelets as a source of the damage-associated molecular pattern HMGB1 in patients with systemic sclerosis. *Autoimmunity.* 2012a; 45(8):584–587.
247. Oktayoglu P, Em S, Tahtasiz M, Bozkurt M, Ucar D, Yazmalar L, Nas K, Yardimeden I, Cevik F, Celik Y, Mete N. Elevated serum levels of high mobility group box protein 1 (HMGB1) in patients with ankylosing spondylitis and its association with disease activity and quality of life. *Rheumatology international.* 2013; 33(5):1327–1331.
248. Abdulahad DA, Westra J, Bijzet J, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. High mobility group box 1 (HMGB1) and anti-HMGB1 antibodies and their relation to disease characteristics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2011; 13(3):R71.
249. Sundberg E, Grundtman C, Af Klint E, Lindberg J, Ernestam S, Ulfgren AK, Harris HE, Andersson U. Systemic TNF blockade does not modulate synovial expression of the

- proinflammatory mediator HMGB1 in rheumatoid arthritis patients--a prospective clinical study. *Arthritis research & therapy*. 2008; 10(2):R33
250. Marzouk H, Lotfy HM, Farag Y, Rashed LA, El-Garf K. Mean Platelet Volume and Splenomegaly as Useful Markers of Subclinical Activity in Egyptian Children with Familial Mediterranean Fever: A Cross-Sectional Study. *Int J Chronic Dis*. 2015;2015:152616.
251. Stankovic Stojanovic K, Hentgen V, Fellahi S et al. Concordance between CRP and SAA in familial Mediterranean fever during attack-free period: A study of 218 patients. *Clin Biochem*. 2016 Nov 10.
252. Ergüven, M., Üçel, R., Cebeci, A. N., & Pelit, M. (2006). Ailevî Akdeniz ateşinin demografik, klinik ve genetik özellikleri ile tedaviye yanıtı: 120 vakalık tek merkez deneyimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49, 283-90.
253. Abuhandan, M., Kaya, C., & Güzelçiçek, A. (2015). Ailevi Akdeniz ateşi tanısı alan 186 olgunun klinik semptom ve MEFV geni mutasyonlarının incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, 42(1).
254. Özen S, Uçkan D, Baskın E, Okur H, Beşbaş N, Saatçi Ü, Bakkaloğlu A Apoptosis in familial Mediterranean fever (abstract). *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:277.
255. Güneş H, Kıvrak T, Tatlısu M, Kaya H, Yılmaz MB. Relationship between endothelial dysfunction and microalbuminuria in familial Mediterranean fever. *European Journal of Rheumatology*. 2016;3(2):61-64. doi:10.5152/eurjrheum.2016.15079.