



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**FMF ÖNTANILI HASTALARDA CIAS1, TNFRSF1A VE
VEGF MUTASYONLARI İLE İNSAN KÖPÜKSÜ VİRÜS VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Melek YÜCE

**Samsun
Ağustos - 2015**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**FMF ÖNTANILI HASTALARDA CIAS1, TNFRSF1A VE
VEGF MUTASYONLARI İLE İNSAN KÖPÜKSÜ VİRÜS VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Melek YÜCE

Danışman: Prof. Dr. Hasan BAĞCI

**Samsun
Ağustos- 2015**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Melek YÜCE tarafından Prof. Dr. Hasan BAĞCI Danışmanlığında hazırlanan ‘‘ **FMF Öntanılı Hastalarda *CIAS1*, *TNFRSF1A* ve *VEGF* Mutasyonları İle İnsan Köpüksü Virüs Varlığının Araştırılması**’’ başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 25/08/2015 tarihinde yapılan sınav ile Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’nda DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Hasan BAĞCI (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Kuddusi CENGİZ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye: Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye: Yrd. Doç. Dr. Tuba DİNÇER (Karadeniz Teknik Üniversitesi)

Üye: Yrd. Doç. Dr. Zehra Safi ÖZ (Bülent Ecevit Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez Enstitümüz Yönetim Kurul’unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

25/08/2015

Doç. Dr. Aydın HİM
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyoloji ve Moleküler Genetik alanındaki Doktora eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilimsel açıdan doğru araştırma ve analiz etme, bilimsel olaylara neden sonuç ilişkisine dayalı yorum getirme yetilerini kazandıran, ilgi, yol göstericiliği ve anlayışı ile her zaman yanımda olan, bana her türlü desteği veren değerli danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hasan BAĞCI'ya öncelikle teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında, desteğini esirgemeyen tez izleme komitesi ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kuddusi CENGİZ'e, hem tez çalışmalarımda hem de laboratuvar çalışmalarımda destek veren tez izleme komitesi ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ'e, teşekkür ederim.

İstatistik çalışmalarımın değerlendirilmesinde destek olan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR'a teşekkür ederim.

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalındaki çalışma arkadaşlarım Öğretim Görevlisi Şengül TURAL'a, Araştırma Görevlisi Aslı METİN'e, yüksek lisans öğrencisi Bayram BAYRAMOV'A ve bütün çalışma arkadaşlarıma, sekreter Neriman DÜZ BALTA ve Şirin SAYAR'a, personel Mustafa NORLU'ya teşekkür ederim. Bu çalışmaya mali destek veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na (PYO.TIP.1904.12.002) ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline teşekkür ederim. Son olarak Doktora eğitimim sırasında verdikleri manevi destek ve sabırdan dolayı öncelikle annem ve babama, sevgili eşim Aydın YÜCE ve biricik kızım Berin Nida YÜCE'ye teşekkür ederim.

Bu tez, çok sevdiğim canım kızım Berin Nida YÜCE' ye ithaf edilmiştir.....

ÖZET

FMF ÖNTANILI HASTALARDA *CIAS1*, *TNFRSF1A* VE *VEGF* MUTASYONLARI İLE İNSAN KÖPÜKSÜ VİRÜS VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Amaç: Otoinflamatuvar kalıtsal bir hastalık olan Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, FMF), *MEFV* geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda, Tel-Hashomer kriterlerine göre “kesin tanı” almasına rağmen, bu hastalığa neden olan ve yaygın olarak gözlenen 12 *MEFV* gen mutasyonundan hiçbirini taşımayan hastalarda, FMF hastalığının yaygın fenotipik özelliklerinin ortaya çıkmasında *CIAS1* ve *TNFRSF1A* genleri mutasyonları ve *VEGF* genindeki polimorfizmin etkisi ile İnsan köpüksü virüsünün (HFV) varlığını araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmada FMF ön tanıli hastalar Tel-Hashomer kriterlerine göre değerlendirildi. Bu kriterlere göre kesin tanı alan hastaların periferik kanlarından elde edilen DNA’ları *TNFRSF1A*, *CIAS1* ve *VEGF* geninin sık görülen mutasyon bölgeleri PCR-RFLP yöntemi ile Human foamy virüsü ise PCR ile çoğaltılarak çalışıldı.

Bulgular: *TNFRSF1A* geni açısından karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p=0,481$), *VEGF* gen polimorfizmi açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,03$). Çalışmaya dahil edilen bireylerin hiçbirinde *CIAS1* L307P mutasyonuna rastlanmadığı için istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı. İnsan köpüksü virüs varlığı ise istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ($p=0,002$).

Sonuçlar: Elde ettiğimiz sonuçlar, *VEGF* geni 936 C/T polimorfizminin FMF’in fenotipik özelliklerinin ortaya çıkmasında etkili olabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde insan köpüksü virüsünün görülme sıklığının farklı olması da FMF klinik tablosunda yalnızca *MEFV* gen mutasyonlarının değil, başka etmenlerin de rol oynayabileceği görüşünü desteklemektedir. Bununla beraber, *TNFRSF1A* ve *CIAS1* gen polimorfizminin, FMF’in klinik özelliklerinin ortaya çıkmasında etkili olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *CIAS1*; İnsan Köpüksü Virüsü; *MEFV*; *TNFRSF1A* gen mutasyonları; *VEGF* polimorfizmi

Melek YÜCE, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi- Samsun, Ağustos-2015

ABSTRACT

INVESTIGATION OF HUMAN FOAMY VIRUS AND *CIAS1*, *TNFRSF1A* AND *VEGF* MUTATIONS IN PATIENTS WITH FMF PREDIAGNOSIS

Aim: Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autoinflammatory inherited disease caused by mutations in the *MEFV* gene. In our study, we aimed to determine whether there is any relationship between the emergence of common phenotypic symptoms of FMF disease and *CIAS1* and *TNFRSF1A* gene mutations and *VEGF* gene polymorphism, as well as presence of human foamy virus in FMF patients, with definite diagnosis according to Tel-Hashomer criteria, who do not carry any of the 12 most common mutations tested in their *MEFV* genes.

Material and Method: In this study, DNA was obtained from peripheral blood of FMF patients who were definitely diagnosed according to Tel-Hashomer criteria. While hot spot mutation regions of *TNFRSF1A*, *CIAS1* and *VEGF* genes were analyzed by PCR-RFLP, the presence of Human foamy Virus was studied by PCR.

Results: While the difference between groups was not found to be statistically significant ($p=0.481$) for *TNFRSF1A* gene mutation, the difference was found to be statistically significant for *VEGF* gene polymorphism ($p=0.03$). As none of the individuals who participated in this study carried *CIAS1* L307P mutation, no statistical evaluation was carried out regarding this mutation. The presence of human foamy virus was found to be significantly different between the groups ($p=0.002$).

Conclusion: Our results suggest that 936 C/T polymorphism in *VEGF* gene can be effective in the emergence of phenotypic symptoms of FMF. Similarly, significantly different presence of human foamy virus support the suggestion that clinical picture of FMF does not only depend on the mutations in the *MEFV* gene, but other factors may also play a role. On the other hand, the results also suggest that *TNFRSF1A* and *CIAS1* gene mutations do not seem to effect the emergence of clinical symptoms of FMF.

Keywords: *CIAS1*; Human Foamy Virus; *MEFV*, *TNFRSF1A*, *VEGF* gene mutations,

Melek YÜCE, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University- Samsun, August-2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAA, FMF:	Ailevi Akdeniz atesi (Familial Mediterranean fever)
ASC:	CARD bölgesi içeren apoptoz ilişkili leke benzeri protein (Apoptosis-associated specklike protein with a CARD)
CAPS:	Kriyopirin ilişkili periyodik sendrom (Cryopyrin-associated periodic syndrome)
CARD:	Kaspaz bağlanma bölgesi (Caspase recruitment domain)
CC:	Sarmal sarmal bölgesi (Coiled coil domain)
CRD:	Sistein zengin bölge (Cystein rich domain)
DAMP:	Hasar ilişkili moleküler yapıları (Damage-associated molecular patterns)
DD:	Ölüm bölgesi (Death domain)
FCAS:	Soğukla uyarılan ailesel otoinflamatuar sendrom (Familial cold-induced autoinflammatory syndrome)
FV:	Köpüksü virüs (Foamy virus)
HFV:	İnsan köpüksü virüsü (Human foamy virus)
HIDS:	Hiperimmünglobulinemi D ile seyreden periyodik ateş sendromu (Hyper IgD Syndrome)
HIV:	İnsan immünyetmezlik virüsü (Human immunodeficiency virus)
HTLV:	İnsan T-hücresi lösemi virüsü (Human T-cell leukemia virus)
ICE:	İnterlökin dönüştürücü enzim (Interleukin converting enzyme)
IL:	İnterlökin (interleukin)
IL-1β:	İnterlökin 1- β (Interleukin 1- β)
IRF:	İnterferon düzenleyici faktör (Interferon regulatory factor)
LPS:	Lipopolisakkarit (Lipopolysaccharide)
LRR:	Lösence zengin bölge (Leucine-rich region)
MEFV:	ME diterranean FeV er
MWS:	Muckle-Wells sendromu (Muckle-Wells syndrome)
NACHT:	NAIP (nöronal apoptoz inhibitör protein), CIITA (sınıf II MHC transkripsiyonel aktivatör), HETE (bakteriyel nükleotid trifosfataz protein), ve TP1 (telomerazla ilişkili protein) [NAIP (neuronal apoptosis inhibitor protein), CIITA (class II MHC transcriptional activator),

	HETE (bacterial nucleotide triphosphataseprotein), and TP1 (telomerase-associated protein)]
NALP:	NACHT, LRR ve PYD bölgeleri (NACHT, LRR and PYD domains)
NBS:	Nükleotid bağlanma dizisi (Nucleotide-binding sequence)
NF-κB:	Nükleer faktör kappa B (Nuclear Factor kappa B)
NLR:	NOD-benzeri reseptör (NOD-like receptors)
NOD:	Nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon bölgesi (Nucleotide-binding oligomerization domain)
NOMID:	Yenidoğan başlangıçlı çoklu sistem inflamatuvar hastalık (Neonatal-onset multisystem inflammatory disorder)
PAMP:	Patojen ilişkili moleküler yapılar (Pathogen-associated molecular patterns)
PAPA:	Piyoderma gangrenozum akne, piyojenik steril artrit (Pyoderma gangrenosum, acne, pyogenic sterile arthritis)
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
Pro-IL-1β:	Pro-interlökin 1-β (Pro-interleukin 1-β)
PRR:	Patojen tanıma reseptörleri (Pathogen recognition receptor)
PSTPIP1:	Prolin, serin, threonin fosfatazla etkileşen protein 1 (Proline, serine, threonine phosphatase-interacting protein 1)
PYD:	Pirin N-homoloji bölgesi (Pyrin N-homology domain)
RFLP:	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism)
TACE:	TNF-α dönüştürücü enzim (TNF-α converting enzyme)
TIR:	Toll-interlökin-1 reseptör (Toll-interleukin-1 receptor)
TLR:	Toll-benzeri reseptör (Toll-like receptor)
TNF:	Tümör nekroz faktör (Tumor necrosis factor)
TRAPS:	Tümör-Nekroz Faktör (TNF) reseptörüyle ilişkili periyodik sendrom [(TNF-Tumor Necrosis Factor) receptor associated periodic syndrome]
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor)
ZF:	Çinko parmak bölgesi (Zinc-finger domain)

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Otoinflamatuvar Hastalıklar	3
2.2. Otoinflamatuvar Hastalıkların Patofizyolojisi	4
2.2.1. İnflamasyonda İnterlökin 1 β 'nin Rolü	8
2.2.2. İnflamazomlar	11
2.2.3. NLRP3 İnflamazomu	12
2.2.4. Pirin Ailesi	15
2.3. Sınıflandırma	16
2.4. Ailevi Akdeniz Ateşi	20
2.4.1. Tanım	20
2.4.2. Hastalık ile İlişkili Gen ve Pirin Proteini	21
2.4.3. Patogenez	24
2.4.4. Klinik Özellikleri ve Tanı	25
2.4.5. Tedavi	28
2.5. Kriyopirinopatiler	29
2.5.1. Tanım	29
2.5.2. Hastalık ile İlişkili Gen	30
2.5.3. Patogenez	31
2.5.4. Klinik Özellikleri ve Tanı	34
2.5.5. Tedavi	34
2.6. Tümör Nekroze Edici Faktör Reseptör ile İlişkili Periyodik Ateş Sendromu	35
2.6.1. Tanım	35
2.6.2. Hastalık ile İlişkili Gen	36
2.6.3. Patogenez	37
2.6.4. Klinik Özellikleri ve Tanı	39
2.6.5. Tedavi	40

2.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	41
2.8. İnsan Köpüksü Virüsü (HFV)	43
3. MATERYAL VE METOT	49
3.1. Kan Örneklerinin Toplanması	49
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	49
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	50
3.4. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonlar	51
3.5. Çalışmada Kullanılan Elektroforez Solüsyonları	51
3.6. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	52
3.6.1. DNA İzolasyonu İçin Uygulanan Protokol	52
3.7. Kullanılan Moleküler Tanı Teknikleri	53
3.7.1. PCR (Polymerase Chain Reaction) Amplifikasyonu	53
3.7.2. Jel Elektroforezi ve PCR ürünlerinin yürütülmesi	53
3.7.3. PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) Yöntemi	54
3.7.4. Jel Elektroforezi ve RFLP ürünlerinin yürütülmesi	54
3.7.5. PCR ve PCR-RFLP Yöntemlerinde Kullanılan Primer Dizileri	55
3.7.6. CIAS1 Geni L307P Mutasyonlarının İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi	55
3.7.7. CIAS1 Geni L307P Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi	56
3.7.8. TNFRSF1A Geni R92Q Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi	57
3.7.9. TNFRSF1A Geni R92Q Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi	59
3.7.10. VEGF Geni 936C/T Polimorfizmi İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi	59
3.7.11. VEGF Geni 936C/T Polimorfizmi İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi	61
3.7.12. Human Foamy Virüs Bell Dizisi Varlığının Araştırılmasında Kullanılan PCR Yöntemi	61
3.8. İstatiksel Değerlendirme	63

4. BULGULAR	64
4.1. TNFRSF1A Geni R92Q Mutasyonu Genotip Oranları.....	65
4.2. VEGF Geni 936 C/T Polimorfizmi Genotip Oranları.....	68
4.3. CIAS1 Geni L307P Mutasyonu Genotip Oranları	69
4.4. İnsan Köpüksü Virüs (HFV) varlığı	71
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR	87
EK 1. Etik Kurulu Raporu.....	106
EK 2. Hasta Onay Formu	107
EK 3. Anket Formu.....	110
ÖZGEÇMİŞ	113

1. GİRİŞ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, FMF) otoinflamatuvar hastalıklar gurubundandır. Otoinflamatuvar hastalıklar, inflamatuvar hastalıkların son dönemde tanımlanmış bir alt sınıfı olup, otoimmün hastalıklarla pek çok ortak özellik taşımaktadırlar. Farklı klinik özellikleri bulunan otoinflamatuvar hastalıkların başlıcaları, FMF, Tümör-Nekroz Faktör (TNF) Reseptörü İlişkili Periyodik Sendrom (TRAPS), Hiperimmünglobulinemi D ile seyreden Periyodik Ateş Sendromu (HIDS) ve Kriyopirinle İlişkili Periyodik Sendromlar (CAPS)'dır. Herbirinde, başlangıç yaşı, atak süresi, klinik belirtiler, hastalığın seyri, hastaların etnik kökeni gibi farklı özellikler olmasına rağmen, klinik tabloya dayanarak, aralarında ayırıcı tanı yapmak oldukça zordur. Ancak, hastalığa özgü tedavi uygulanması açısından, kesin tanı konması önemlidir.

FMF, otoinflamatuvar hastalıklar arasında en sık rastlanan ve otozomal çekinik kalıtım modeli gösteren kalıtsal bir hastalıktır. Periyodik olarak tekrarlayan ateş ve tipik serozit bulgularıyla seyreden hastalıkta, atak sıklıklarının azaltılması ve hastalığın ölümcül komplikasyonu olan amiloidoz gelişiminin engellenmesi için, erken tanının konulup, tedaviye başlanması çok önemlidir.

FMF'in temel bulguları, ateş atakları ve ateş ataklarına eşlik eden karın, ve eklem ağrısı ile ciltte gözlenen erizipel benzeri eritemdir. Bu belirtiler, herhangi bir enfeksiyon ya da belirgin başka bir neden olmaksızın inflamasyona bağlı olarak ortaya çıkar. Genel ateş ise, inflamasyona yanıt olarak gelişir ve doğal bağışıklık sisteminin tetiklendiğini gösterir.

FMF hastalığından sorumlu gen, **ME**diterranean **Fe**Ver (*MEFV*) 1997 yılında keşfedilmiştir ve 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olduğu belirlenmiştir. Günümüze kadar, *MEFV* geninde 308 farklı DNA dizi değişikliği tanımlanmıştır (03.10.2015 Infevers verileri). Değişikliklerin birçoğu, tipik FMF fenotipiyle ilişkilendirilerek, FMF'in allelik heterojenite gösterdiği ortaya konmuştur. Bu gen tarafından kodlanan pirin adlı proteinin, inflamasyon ve apoptoz yollarında önemli rolü bulunmaktadır.

Pirin yapısına benzer yapıda bölgeleri olan başka proteinler de tanımlanmış ve bir kısmı diğer otoinflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Otoinflamatuvar

hastalıkların klinik özellikleri birbirlerine oldukça benzediğinden bu hastalıkları birbirinden ayırmak ve tanı koymak oldukça zordur.

Bazı hastalarda, birden fazla otoinflatuar hastalıkla ilişkilendirilmiş gen mutasyonu tanımlanmıştır. Örneğin Stojanov, 12 yaşında bir Çinli erkek çocukta, hem *TNRFSF1A* geninde heterozigot Y20D mutasyonu, hem de *MEFV* geninde heterozigot E148Q mutasyonu tanımlamıştır. Hastada gözlenen fenotip, ağır bir TRAPS tablosu olarak belirtilmiştir. Araştırmacılar, *MEFV* geninin diğer otoinflatuar hastalıkları değiştirici etkisinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Stojanov ve ark., 2004).

FMF ülkemizde çok yaygın olarak görülen bir hastalık olup klinik tanının kesinleştirilmesi çok büyük önem arz etmektedir. Böylece tanı konulan hastalar bu hastalığın tedavisinde kullanılan kolşisin ilacını alarak hem normale yakın bir hayat sürebilirler, hem de ilaç alınmaması durumunda ilerleyen hastalığın neden olduğu böbrek yetmezliği riskinden kurtulurlar. Böbrek yetmezliği, hastayı yıpratıcı bir hastalıktır ve tedavisi de çok pahalıdır. FMF taşıyıcılık oranının 1/5 gibi çok yüksek olduğu ülkemizde, FMF'li hasta sayısının (1/1000 görülme sıklığıyla) 150 bin dolayında olması beklenmektedir (Turkish FMF study group, 2005; Yigit ve ark., 2008). Böylesine büyük bir kitlenin erken tanıdan yararlanarak normale yakın bir hayat sürüp ekonomimize ve sosyal hayatımıza katkılarını devam ettirmelerinin çok büyük önemi vardır.

Bu tez çalışması ile FMF ile aynı grupta olan CAPS ve TRAPS hastalıkları hedef genlerinin mutasyonlarının FMF üzerinde etkili olup olmadıkları araştırılacaktır. Çalışmaya, bunun yanı sıra, vasküler endotelial growth faktör (*VEGF*) genindeki polimorfizmin FMF hastalığında fenotipik özelliklerin ortaya çıkmasında etkili olup olmadığı ile insan köpüksü virüsünün (human foamy virüs, HFV) FMF hastalarında varlığının araştırılması da dahil edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otoinflamatuvar Hastalıklar

Otoinflamatuvar hastalık kavramı ilk olarak 1999 yılında McDermott ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (McDermott ve ark., 1999). Bu tanım, görünüşte nedeni bilinmeyen inflamasyon atakları ile karakterize bir grup kalıtsal hastalığı tanımlamak için kullanılmıştır (Stojanov ve Kastner, 2005). Otoinflamatuvar hastalıklar, herhangi bir uyarı olmaksızın ortaya çıkan ve tekrarlayan yangısal ataklarla belirginleşen hastalıklar grubudur (Padeh, 2005). Periyodik ateş sendromu olarak da adlandırılan bu hastalık grubunun ortak klinik özelliği enfeksiyon yokluğunda bile tekrarlayan inflamatuvar atakların gözlenmesi, fakat hastalığa özgü oto-antikor veya antijene spesifik T hücre varlığının saptanmamasıdır (Samuels ve ark., 2006; Goldfinger ve ark., 2009). Bu grubu oluşturan hastalıklar “periyodik” olarak adlandırılmalarına rağmen ataklar temelde çok düzenli periyotlarla gelişmediği için “periyodik” yerine “tekrarlayan” ismi daha çok tercih edilmektedir (Bodar ve ark., 2009).

Yaşam boyu tekrarlayan inflamatuvar ataklar ile karakterize olan bu sendromlar; başlangıç yaşı, atak süresi, ataklar sırasında gözlenen klinik semptomlar, prognoz ve hastanın etnik kökeni gibi ayırt edici özelliklere sahiptir. Fakat kesin ayırıcı tanının konulması hastalığa özgü tedavi uygulaması için oldukça önemlidir (Simon ve ark., 2006). Tüm tekrarlayan ateş sendromlarındaki ortak klinik özellik minimal bir tetikleyici etken (soğuk, travma, menstruasyon gibi) ile veya belirgin bir tetikleyici etken olmaksızın ateş ve akut faz yanıtında artış ile beraber inflamatuvar bulguların oluşmasıdır. Ataklar genelde periyodik özellik göstermez ve düzensiz aralıklarla gelişir. Klinik bulguların pek çok organ sistemi ile ilişkili olması ve sık görülen hastalıklar olmamalarından dolayı hastaların tanı alması uzun yıllar alabilir (Ataman ve Yalçın, 2012). Hastaların çoğunda, ateş atakları çocukluk çağında başlamakla beraber bazen yaşamın ilk birkaç haftası içinde de başlayabilir. Fakat, özellikle TRAPS’de ergenlik döneminde ve hatta geç erişkin dönemde başlayabilir. Atak süreleri bir günden bir haftaya kadar değişebilir. Ateşe eşlik eden semptomlar artan inflamasyondan kaynaklanır. Genetik neden bilinmeden önce farklı otoinflamatuvar sendromu birbirinden ayırt etmek için detaylı bir klinik tanımlama gerekmektedir (Simon ve van der Meer, 2007).

Hastalar genellikle inflamatuvar belirtilerin başlamasından önce yorgunluk, baş ağrısı ve halsizlik gibi spesifik olmayan belirtiler ile kısa ama tanınabilir prodromal faz deneyimi yaşar. Tekrarlayan inflamasyon, normositik anemi, yorgunluk, kilo kaybı gibi belirtilere neden olabilir. Semptomlar genellikle kendiliğinden düzelir ve ateş atakları arasında hastaların çoğu semptom göstermez (Kastner, 2005; Simon ve van der Meer, 2007).

McDermott ve arkadaşları tarafından tanımlanan otoinflamatuvar hastalıklar (McDermott ve ark., 1999) grubunun klasik örnekleri arasında FMF, soğukla uyarılan ailesel otoinflamatuvar sendrom (FCAS) ve CAPS tanımlanmıştır. Dominant kalıtsal otoinflamatuvar sendrom ailesinin prototipi olarak ise TRAPS önerilmiştir (Dinarello, 2011a). Bu otoinflamatuvar hastalıkların keşfinden sonra otoinflamasyonun, kaspaz-1 aktivasyonu ve aktif interlökin-1 β (IL-1 β) salgılanmasına neden olan fonksiyon kazandırıcı mutasyonlar sonucu ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Dinarello, 2011b).

2.2. Otoinflamatuvar Hastalıkların Patofizyolojisi

Otoinflamatuvar hastalıklar doğuştan gelen bağışıklık sistemi bozukluklarıdır. Canlının ilk savunma mekanizması olan doğuştan gelen bağışıklık, çeşitli hücreleri ve molekülleri içerir. Hücresel elemanlar olarak nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler gibi farklı beyaz kan hücrelerinden oluşan bu sistem, aynı zamanda sitokin interlökin-1 (interleukin-1, IL-1)'in önemli bir rol üstlendiği proinflamatuvar sinyal proteinlerine ve kompleman sistemine bağlıdır (Kastner, 2005). Otoinflamatuvar tanımı, patojenlerin, otoantikörlerin veya self-reaktif T hücrelerinin yokluğunu vurgulamak için üretilmiş bir tanımlamadır (Rigante, 2012). Kalıtsal otoinflamatuvar hastalıklar ile bağlantılı olan mutasyonlar, doğuştan gelen bağışıklık sistemi içindeki inflamatuvar sinyal yollarını etkileyebilir. Doğal immün yanıt sistemi, reseptörler aracılığı ile dış tehlikeleri algılar. Özellikle bakteriyel membran bileşenleri olan patojen ilişkili moleküler yapılar, reseptörlerin uyarılmasında önemli rol oynar. Reseptörler, toksik maddeler, yapısı bozulmuş nükleer materyal veya apoptoza uğramış hücrelerden salınan proteinler (alarminler) gibi endojen tehlike sinyallerini de algılayabilmektedir (Ataman ve Yalçın, 2012).

Patojenler üzerinde bulunan ve evrimsel olarak korunmuş moleküler yapılara patojen ilişkili moleküler yapılar (patojen-associated molecular patterns, PAMP)

denilmektedir. Doğal immün sistem hücreleri üzerinde bunları tanıyan reseptörlere de patojen tanıma reseptörleri (pathogen recognition receptor, PRR) adı verilmektedir (Turul ve Ersoy, 2004). Doğuştan gelen bağışıklık yanıtı için çok önemli olan PRR'ler, dendritik hücreler veya makrofajlar gibi doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücreleri tarafından ifade edilir ve tehlike veya hasar sinyallerini algılar (Hosseini ve ark., 2015). Bunlar, viral ve bakteriyel nükleik asitler, lipopolisakarit (LPS) ve flagellin gibi patojen ilişkili moleküler yapıları ve doku homeostazının bozulması, fiziksel zedelenme gibi nedenlerle konak hücrelerden salgılanan doymuş yağ asitleri ve amiloid β gibi endojen hasar ilişkili moleküler yapıları (damage-associated molecular patterns, DAMPs) tanırlar ve temel olarak nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) ve interferon düzenleyici faktör (interferon regulatory factor, IRF) üzerinden proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu düzenleyen downstream (alt) sinyal yollarını başlatır (Park ve ark., 2012; Hosseini ve ark., 2015). Bu reseptörler, endositik, salgılanan ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılır. Sinyal ileten reseptör grubunu, toll benzeri reseptör (toll-like receptors, TLRs) ailesi oluşturmaktadır. TLR'ler, mikrobiyal ajanlar tarafından üretilen PAMP'ları tanırlar (Turul ve Ersoy, 2004).

Protein yapısında olan TLR'ler, ilk defa 1985'te Nobel ödüllü Christiane Nüsslein-Volhard, Eric Weischaus ve arkadaşları tarafından bir meyve sineği olan *Drosophila melanogaster*'de tanımlanan toll genleri tarafından kodlanırlar (Hansson ve Edfeldt, 2005). İnsanlarda ise, ilk olarak Nomura ve arkadaşları tarafından 1994'te tanımlanmıştır. TLR'ler ilk tanımlandığında immün sistemdeki rolleri bilinmediği için memelilerin gelişiminde rol oynadıkları düşünülmüştür. 1997 yılında ise Janeway ve Medzhitov tarafından bu reseptörlerin, insanlarda edinilmiş immün sistemi harekete geçirebileceği ifade edilmiştir (Medzhitov ve ark., 1997).

Günümüze kadar en az, insanda 11 ve farede 13 tane TLR tanımlanmıştır (Hosseini ve ark., 2015). İlk tanımlanan TLR-1 olmasına rağmen, bu reseptörlerden fonksiyonu ilk belirlenen TLR-4 olmuştur. Fakat her bir TLR'nin ligand spesifitesi birbirinden farklıdır (Turul ve Ersoy, 2004).

Tanımlanan ilk PRR grubu olan toll benzeri reseptörler patojen tanınmasında, inflamatuvar ve immün sistem cevabının başlatılmasında oldukça önemli bir role sahiptir. Bu reseptörler homo-/hetero- dimerik proteinler olarak membranda yerleşmiştir ve membran dış yüzeyi bölgeleri lösinden zengin tekrar bölgeleri (leucine-rich repeat

domain, LRR) içerirken sitozolik kısımda sinyal iletiminde görevli toll-interlökin-1 reseptör (TIR) benzeri bölgesi bulunur. TLR, PAMP ile bağlandığında, intrasitoplazmik TIR bölgeleri aracılığı ile bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olur. Bunun sonucu olarak antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinler sentezlenmektedir (Şekil 1) (Turvey ve Broide, 2010).

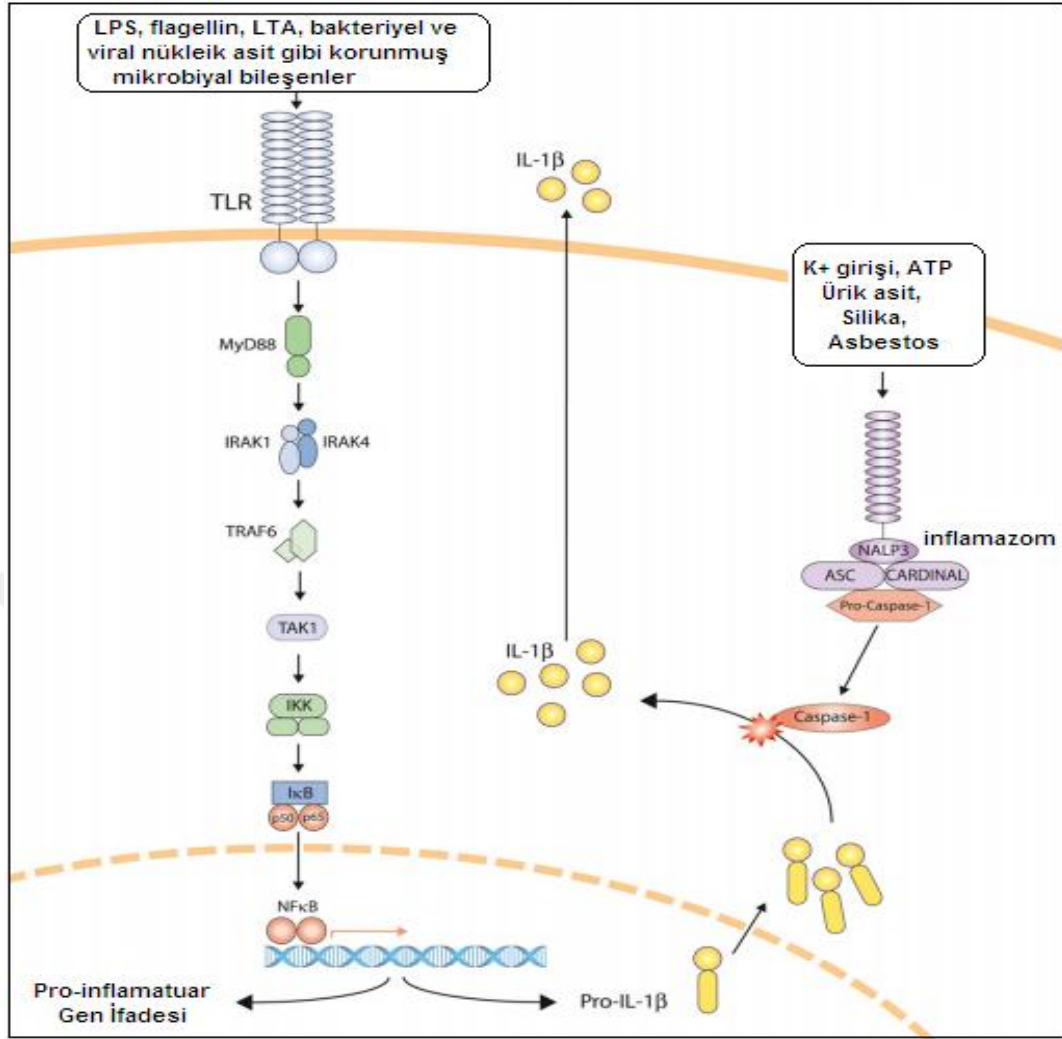
Sitoplazmada yer alan bakteriyel ürünlerin tanınmasında TLR 'lere benzer şekilde, LRR içeren farklı bir PRR ailesi rol alır. Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon bölgesi (NOD)–benzeri reseptörler (nucleotide-binding oligomerization domain receptors, NLR) olarak isimlendirilen bu reseptör ailesi üyeleri inflamazom adı verilen multiprotein kompleksi oluşumunda rol alır (Kambe ve ark., 2010; Modlin, 2012).

Yirmiden fazla üyesi bulunan NLR ailesi proteinlerinin, karboksil ucunda LRR bölgesi ve orta kısmında nükleotid bağlanma bölgesi olan NACHT [NAIP (nöronal apoptoz inhibitör protein), CIITA (sınıf II MHC transkripsiyonel aktivatör), HETE (bakteriyel nükleotid trifosfataz protein),ve TP1 (telomerazla ilişkili protein)] bulunur. Bu reseptörlerde, TIR bölgesi yerine, homofilik protein-protein etkileşimlerinde görevli, kaspaz çekim ve etkinleştirme bölgesi olan, CARD (kaspaz bağlanma bölgesi, caspase recruitment domain) ile PİRİN bölgesi, sinyalleri daha alt düzeylere iletmekle yükümlüdür. Özetle, memelilerde mikroorganizmaların doğal bağışıklık yoluyla tanınmasını sağlayan üçlü yapıda, TIR, CARD ve PİRİN bölgeleri işlev görmektedir (Werts ve ark., 2006).

NLR ailesi üyelerinden biri olan NLRP3 (Nalp3, kriyopirin), inflamazomun önemli bir elemanıdır ve kaspaz-1 aktivasyonundan sorumlu moleküler kompleks'dir (Park ve ark., 2012). Dışarıdan bir uyarı gelmediği durumlarda NLRP3'ün yapısında bulunan LRR bölgeleri katlı halde bulunur ve inflamasyonu baskılayıcı özellik gösterir. Tehlike uyarısı algılandığında NLRP3 etkinleşir ve kaspaz-1'in de dahil olduğu kompleks bir enzim ve protein sistemini içeren inflamazom oluşumu aktive olur. İnflamazomun aktivasyonunu engelleyen proteinlerden biri olan pirin (marenostin), etkisini kaspaz-1 aktivasyonunu engelleyerek gerçekleştirir. Pirin yapısında bozukluk olduğunda inflamazomun baskılanması engellenemez ve inflamatuvar yanıt tetiklenir. Aktif inflamazom ise interlökin IL-1 β (IL-1 β)'nın salınmasında artışa ve inflamatuvar yanıtın tetiklenmesine sebep olur (Ataman ve Yalçın, 2012).

İnflamazomun aktive olması pro-kaspaz-1'in parçalanması ve aktif proteazlara dönüşümünü tetikler. Aktive olan kaspaz-1, ardından pro-interlökin-1 β (pro-IL-1 β) ve pro-interlökin-18 (pro-IL-18)'i içeren hedef molekülleri parçalayarak biyolojik olarak aktif formlara dönüştürür (Contassot ve ark., 2012). Özellikle dinlenme halindeki hücrelerde, pro-IL-1 β sınırlı miktarda bulunur ve TLR aktivasyonu ile üretiminde artış gerçekleşir (Bauernfeind ve Hornung, 2013).

Proinflamatuvar sitokin olan interlökin-1 (IL-1) lokal / sistemik yanıtların ortaya çıkmasına neden olan akut faz inflamasyonun ana mediyatörüdür (Contassot ve ark., 2012). Enfeksiyon, yaralanma ve immünolojik etkenlere karşı gelişen sistemik ve lokal yanıtlarda rol oynayan IL-1 β , lökosit infiltrasyonunu tetikleyici, lenfositleri aktive edici görevlerinin yanında ateş gelişiminde de rol oynar (Bauernfeind ve Hornung, 2013)



Şekil 1. TLR sinyali ve NLRP3 inflamazomuna genel bakış. TLR'nin liganda bağlanması, akut bir inflammatuar yanıt üreten çekirdeğe, transkripsiyon faktörleri NF-κB ve diğerlerinin translokasyonu ile sonuçlanan bir sinyal akışını başlatır. NLRP3 inflamazomu, kaspaz 1 aktivasyonu ile sonuçlanan çeşitli uyarınları tetikler ve böylece bir inflammatuar yanıt oluşturan pro-IL 1β ve pro-IL18'i aktiveştirir. Kısaltmalar; LPS, Lipopolisakkarit; TRAF6, TNF reseptör ilişkili faktör 6; TAK1, Transforming büyüme faktörü-beta-aktif-kinaz 1; IKK, I-kappa-B kinaz; ASC, CARD içeren apoptoz ilişkili leke benzeri protein; LTA, Lipoteichoic acid (Lipotaykoik asit); IRAK1, İnterlökin-1 reseptör ilişkili kinaz 1; IRAK4, İnterlökin-1 reseptör ilişkili kinaz4 (Turvey ve Broide, 2010).

2.2.1. İnflamasyonda İnterlökin 1β'nin Rolü

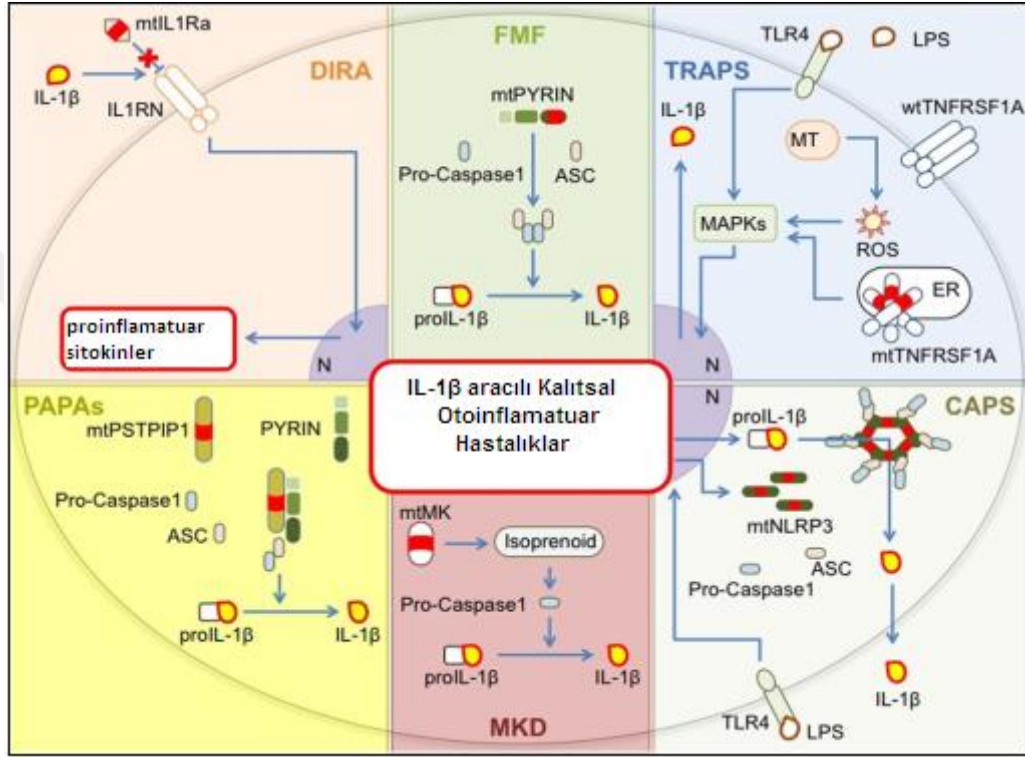
İnflamasyonda yer alan en önemli çözümler moleküllerden biri, inter lökin 1β (IL-1β)'dir (Ferrero-Miliani ve ark., 2006). Güçlü bir proinflammatuar sitokin olan IL-1'in moleküler formlarından biri olan IL-1β, başta monositler ve makrofajlar olmak

üzere nötrofiller, keratinositler, epitel ve endotel hücreleri, lenfositler, düz kas hücreleri, fibroblastlarda dahil olmak üzere birçok farklı hücre tarafından salgılanmaktadır. IL-1 β , tek başına yada diğer diğer sitokinlerle birlikte vücudun birçok bölgesinde çok yönlü etkileri olan çok fonksiyonlu sitokin olarak kabul edilir (Rigante ve ark., 2014). Monositler, makrofaj ve dendritik hücrelerden akut faz yanıtı sırasında salınan IL-1 β , ateş, anoreksiya, inflamasyonun serum belirteçlerinin yükselen seviyeleri gibi sistemik semptomları uyarır. Aynı zamanda düşük seviyelerde, ateş, hipotansiyon, adrenokortikotropik hormon salınımı ve IL-6 gibi sitokinlerin üretimini uyarır. IL-6 ise, serum amiloid A (SAA) ve C-Reaktif Protein (CRP) gibi akut faz proteinlerinin salınmasına ve aynı zamanda endotel hücrelerinde ve lökositlerde adhezyon moleküllerinin sentezini uyararak, lökositoz ve trombositoz gelişimine katkı sağlar (Ferrero-Miliani ve ark., 2006). Aşırı ve kontrol edilemeyen IL-1 β üretimi konakçıya zararlıdır ve bu nedenle sıkı bir şekilde kontrol edilir (Kummer ve ark., 2007).

1980'lerin başında IL-1 β 'nın biyolojik aktivitesinin tanımlanması, kalıtsal otoinflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezinin anlaşılmasını önemli ölçüde kolaylaştırmıştır. Şekil 2'de kalıtsal otoinflamatuvar hastalıklarda IL-1 β 'nin aktivasyon mekanizmaları kısaca gösterilmektedir (Rigante ve ark., 2014).

TLR uyarılarına yanıt olarak salgılanan, etkin olmayan pro-IL-1 β , daha sonra işlenerek aktive edilir. Tüm TLR'lerin, en önemli uyarıcı aktif NF- κ B'dir (Mariathasan ve Monack, 2007) ve pro-IL-1 β ve pro-IL-18 interlökinleri de dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak inflamatuvar ve doğuştan gelen bağışıklık cevabını kontrol eder (Halff, 2013). Pro-IL-1 β , tipik sinyal dizisi olmayan 35 kDa'lık ön madde (prekürsör) olarak sentezlenir ve aktivasyonu ve hücreye salınması interlökin dönüştürücü enzim (ICE) olan kaspaz-1 tarafından proteolitik bölünme ile gerçekleşir. Aktivasyon sonunda 17 kDa'lık olgun ürün oluşur. IL-1 β 'nin işlenmesi için kaspaz-1'in aktivasyonu zorunludur (Ferrero-Miliani ve ark., 2006). Bu nedenle, kaspaz-1 aktivitesi inflamatuvar yanıt için çok önemlidir (Ogura ve ark., 2006). Kaspaz-1, inaktif önmadde olarak ifade edilir ve monositler, makrofajlar gibi inflamatuvar efektör hücreleri uygun uyarıcıları alana kadar sitoplazmada inaktif olarak kalır. Aktifleşmesi ise inflamazom olarak tanımlanan bir multiprotein kompleksi tarafından gerçekleşir (Ferrero-Miliani ve ark., 2006, Ouyang ve ark., 2013).

Aktif hale gelen IL-1 β , salgısal lizozomlar veya mikrovezikül yırtılması sonucu sitozolden hücre dışına salgılanır. Olgun IL-1 β salınması kaspaz-1 aktivasyonu ile bağlantılı olduğu için, inflamazom salgı mekanizmasının bir parçası olarak işlev görebilir. Kaspaz-1 aktifleşmesi sonucu sitokin salgılanması veya hücre ölümü meydana gelir (Ogura ve ark., 2006).



Şekil 2. Otoinflamatuar hastalıklarda, IL-1 β aktivasyon mekanizmaları: ailevi Akdeniz ateşi (FMF), kriyopirin ilişkili periyodik sendromlar (CAPS), mevalonat kinaz eksikliği sendromu (MKD) ve PAPA sendromu (Papas) sırasıyla; pirin, kriyopirin, mevalonat kinaz enzimi (MK) ve PSTPIP1 genleri üzerindeki mutasyonlar nedeniyle meydana gelmektedir. Bu mekanizmalar, pro-kaspaz 1 aktivasyonu ile ilişkilidir ve IL-1 β işleme ve salgılamasında artışa neden olur. Tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS), TNF reseptörlerinde (*TNFRSF1A* olarak da adlandırılan) mutasyon sonucu oluşur ve endoplazmik retikulum içinde mutasyona uğramış *TNFRSF1A* (*mtTNFRSF1A*)'nın hücre içi birikimi sonucu inflammatuar yanıt gelişir. Kısaltmalar: Toll-like receptor 4 (TLR4); interlökin 1 receptor antagonist (IL1RN); yabancı tip *TNFRSF1A* (*wtTNFRSF1A*); nükleus (N); mutant NLRP3 (*mtNLRP3*); mutant MK (*mtMK*); mutant PSTPIP1 (*mtPSTPIP1*); interlökin 1 receptor antagonist (IL1Ra) (Rigante ve ark., 2014).

2.2.2. İnflamazomlar

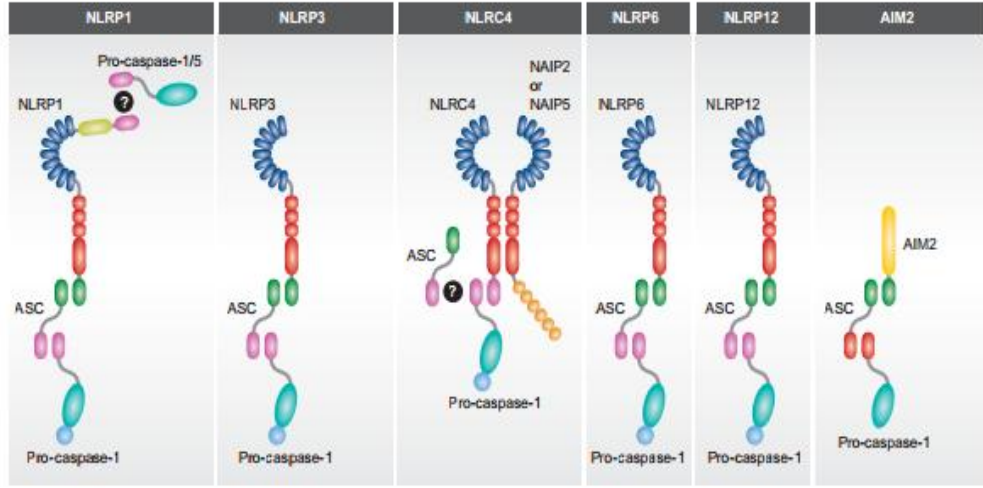
İnflamazom, pro-IL-1 β 'nin işlenmesi ve inflamatuvar kaspaz'ın aktivasyonunu tetikleyen büyük bir moleküler kompleks olarak Tschopp ve ark. tarafından 2002 yılında tanımlanmıştır (Martinon ve ark., 2002).

İnflamazomlar, doğuştan gelen bağışıklık sisteminde etkili IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin olgunlaşmasını tetikleyen hücrel enfeksiyon veya stres üzerinde etkili moleküler platformlardır. İnflamazom kompleksi, çoğunlukla NLR ailesinin üyelerinden biri, CARD içeren ASC adaptör proteini (CARD içeren apoptoz ilişkili leke benzeri protein) ve pro-kaspaz-1 moleküllerinden oluşur (Şekil 3)(Schroder ve Tschopp, 2010; Ranson ve Eri, 2013; Ozaki ve ark., 2015).

NLR aile üyeleri, tüm NLR'ler için ortak olan merkezi nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon bölgesi (NACHT, NOD veya nucleotide-binding domain NBD), NLR'lerin çoğunda C-terminal lösince zengin tekrar bölgesi (LRR, leucine-rich repeat) ve değişken N-terminal efektör pirin bölgesi (PYD) veya CARD olmak üzere 3 bölge içerir. LRR bölgesi, ligandın algılanması ve otoregülasyonu için önemli iken NACHT bölgesi ATP-bağımlı oligomerizasyon aracılığı ile sinyal kompleksinin aktivasyonunu sağlar. N-terminal efektör bölgesi ise downstream (alt) sinyal iletiminde görev yapar. Şimdiye kadar 23 insan ve 34 fare NLR geni tanımlanmıştır (Ozaki ve ark., 2015).

NLR, ligandı ile bağlanarak oligomerize olur ve protein-bölge etkileşimleriyle ASC adaptör proteinine bağlanır. ASC ise CARD bölgesi aracılığı ile prokaspaz-1'i biyolojik olarak aktif kaspaz-1'e dönüştürür. Aktif kaspaz-1 de IL-1 β , IL-18 ve IL-33 sitokinlerinin öncül formlarını proteolitik olarak keser ve aktif formlarına dönüştürür. ASC, proinflamatuvar sitokinin uyarılmasına yanıt olarak kaspaz-1 inflamazom sinyal kompleksinin oluşumuna aracılık ederek kaspaz-1 sinyal yolağında yer almaktadır (Srinivasula ve ark., 2002; Khare ve ark., 2010).

NLR proteinleri arasında NLRP, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12 ve NLRC4'nin inflamazom yapısında yer aldıkları gösterilmiştir. Buna ek olarak ALR (augmenter of liver regeneration) aile üyeleri AIM2 (absent in melanoma 2) ve IFI-16 (interferon-inducible-protein 16) işlevsel inflamazom oluşturabilir. (Latz ve ark., 2013).



Şekil 3. Yapılanmış inflamazomlar. Nükleotid bağlanma bölgesi, LRR içeren NLR aile proteinleri, AIM2 pyhin protein (PYRIN ve HIN bölgesi-içeren proteinler) ve bir köprü proteinini olan ASC, (CARD içeren apoptoz ilişkili leke benzeri protein, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) aracılığı ile pro-kaspaz-1'in aktivasyonu (Bauernfeind ve Hornung, 2013).

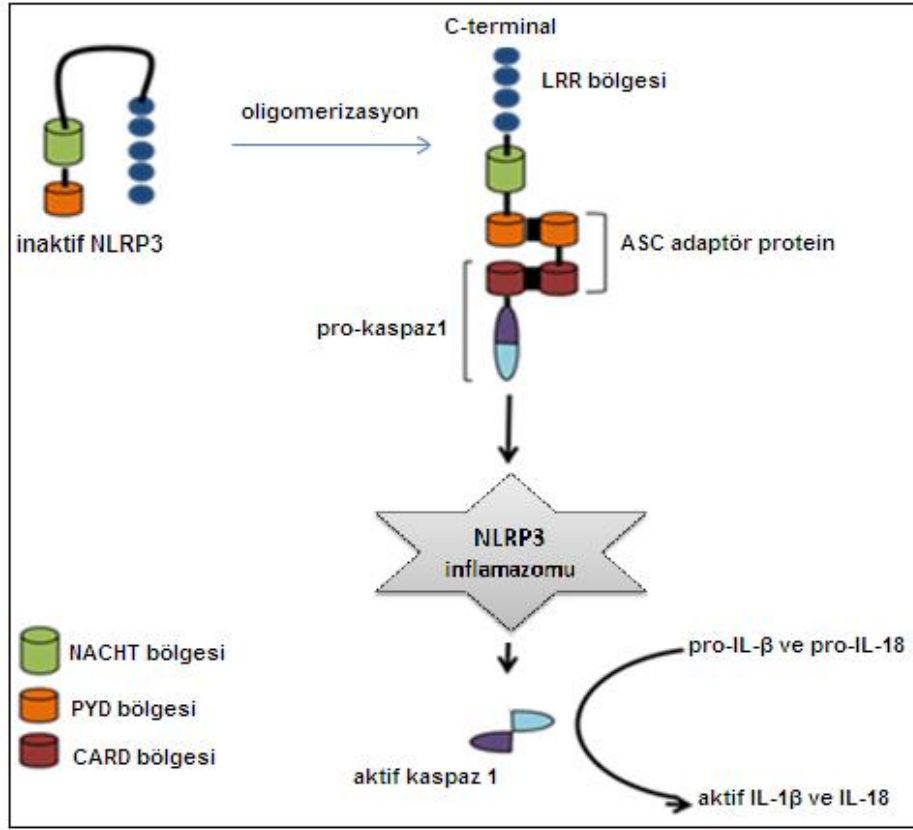
2.2.3. NLRP3 İnflamazomu

İnflamazom yapısında yer alan NLR proteinlerinden biri olan NLRP3, makrofaj, mikroglia gibi bağışıklık sistemine ait hücelere ulaşan tehlike sinyallerini tanıyan ve IL-1 β ile IL-18 aracılı inflammatuar yanıtların başlamasında görev alan sitozolik bir reseptör proteindir (Şahin ve Arıcıoğlu, 2013; Vladimer ve ark., 2013). NLRP3, monositler, dendritik hüceler, nötrofiller, lenfositler, epitel hüceleri ve osteoblastların sitosolünde ifade edilir (Kummer ve ark., 2007). İnflamazom aktivasyonunda, makrofaj ya da mikroglia hücelesine tehlike sinyalinin ulaşması sonucu, sinyaller bu hücelerin membranında yerleşim gösteren TLR tarafından tanınır ve IL-6, Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi proinflammatuar sitokinlerin genlerinin transkripsiyonları artarak salınımları gerçekleşir. IL-1 β ve IL-18 üretimi, inflamazomun aktivasyonu sonucu gerçekleşen iki aşamalı bir süreçtir. TLR'lerin tehlike sinyalleri tarafından uyarılması sonucunda her iki proinflammatuar sitokinin öncül formu olan pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in NF- κ B aracılı gen transkripsiyonu gerçekleşir. NLRP3 aracılı inflamazom aktivasyonu sonucunda oluşan aktif kaspaz-1 de pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in biyolojik olarak aktif formları olan IL-1 β ve IL-18'e dönüşümünü gerçekleştirir.

TLR'lerin aktive olmasıyla, pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in yanında NLRP3'ün de NF- κ B aracılı gen transkripsiyonu artar (Şahin ve Arıcıoğlu, 2013).

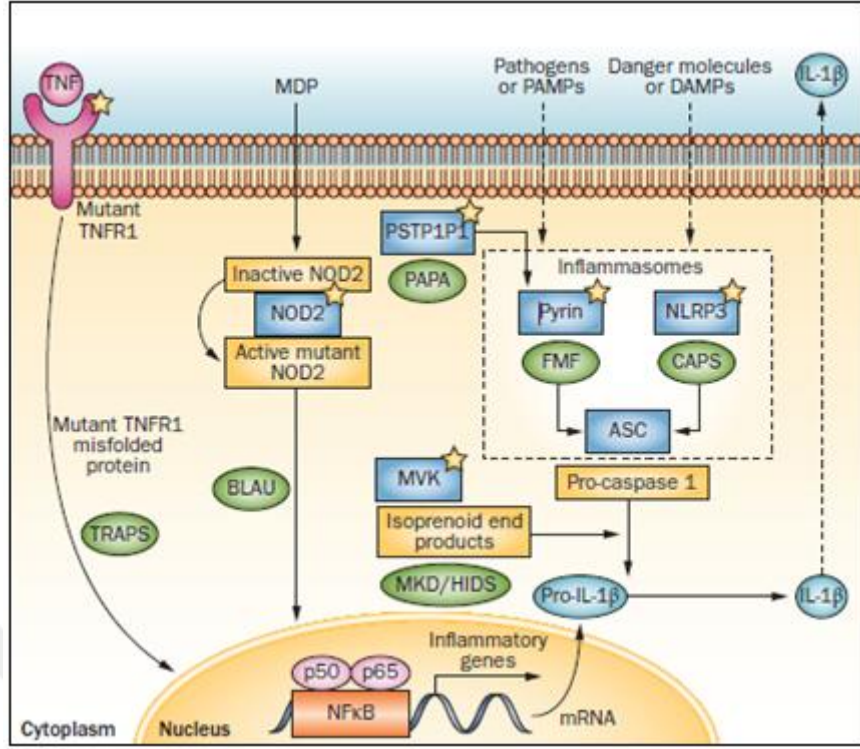
NLRP3'ün P2X7 reseptörleri aracılığıyla aktive olması sonucu yapıya ASC proteini ve pro-kaspaz'ın bağlanmasıyla inflamazom yapısı oluşur ve sonuçta kaspaz-1'in aktivasyonu gerçekleşir. İnaktif formdaki NLRP3, üç farklı bölgeden oluşmaktadır. C terminalinde LRR, merkezde NACHT ve N terminalinde protein-protein etkileşim bölgesi ile PYD içerir. NLRP3'ün LRR bölgesi tehlike sinyalinin algılanmasında etkilidir ve NACHT bölgesi aracılığı ile NLRP3 monomerlerinin oligomerizasyonu ile sonuçlanır. Daha sonra NLRP3'ün PYD efektör bölgesi, ASC'nin efektör bölgesi ile etkileşir. ASC, CARD bölgesi aracılığı ile prokaspaz-1'i etkileyen adaptör protein olarak görev yapar. NLRP3'ün NACHT bölgesinin aynı zamanda ATP'ye bağlandığı ve hidrolize ettiği gösterilmiştir. NLRP3'ün ATPaz aktivitesi NLRP3 aracılı fonksiyonlar için gerekli olduğu gösterilmiştir ve NACHT bölgesindeki mutasyonlar inflamazom oligomerizasyonu, kaspaz-1 aktivasyonu, IL-1 β ve IL-18 salgılanması ve piroptosis aracılı hücre ölümünün azalmasına neden olmaktadır (Duncan ve ark., 2007; Ozaki ve ark., 2015).

Şekil 4'de NLRP3 inflamazomunun yapısı ve pro-IL-1 β 'nin biyolojik olarak aktif forma dönüşümü gösterilmiştir.



Şekil 4. NLRP3 inflamazomu, NLR aile üyelerinden NLRP3 proteini ve adaptör protein ASC molekülünden oluşur. PYD-PYD etkileşimi ile ASC'nin yapıya eklenmesi sonucu inflamazomun aktivasyonu ve pro-kaspaz-1 aktivasyonu ile sonuçlanır. Daha sonra, aktif kaspaz-1, pro-IL-1 β da dahil olmak üzere hedef molekülleri biyolojik olarak aktif formlar şeklinde parçalar. LRRs, leucine-rich repeats; NOD, nucleotide-binding oligomerization domain; PYD, pyrin domain; CARD, caspase-recruitment and activating domain; NLRP3, NOD-LRRs containing PYD 3; ASC, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (Ranson ve Eri, 2013).

İnflamasyon yoluyla kaspaz-1 aktivasyonu güçlü bir proinflamatuvar sitokin olan aktif IL-1 β 'nin üretimine neden olur. FMF dahil otoinflamatuvar hastalıkların çoğu, ilgili yolak da fonksiyonel genlerde meydana gelen mutasyonların neden olduğu monogenik hastalıklardır. Şekil 5'de temel monogenik otoinflamatuvar sendromların patogenezinin basit bir şeması verilmiştir.

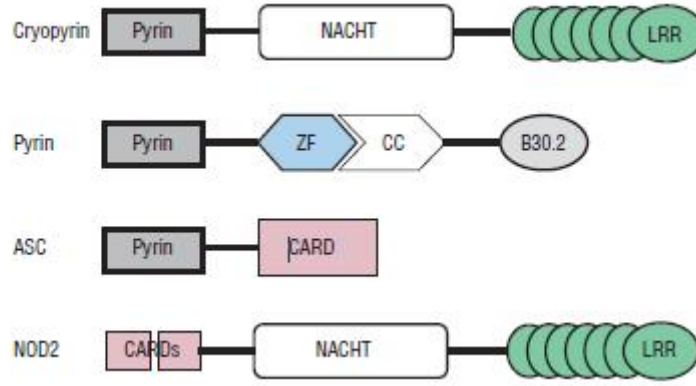


Şekil 5. Şekilde temel monogenik otinflatuar sendromların patogenezinin basit bir şeması verilmiştir. Mutasyona uğramış proteinler yıldız ile gösterilmiştir ve yeşil çerçeveli terimler ilişkili oldukları hastalıkları göstermektedir. TRAPS’de mutant TNFR1 (yanlış katlanmış protein), NF-κB aracılığı ile anormal inflammatuar yanıtı yol açar. FMF’de mutant pirin, inflamazom adaptör protein ASC aracılığı ile IL-1β üretiminde artışa neden olarak inflamasyona neden olur. CAPS’de de NLRP3 oligomerizasyonu aktive olur ve adaptör protein ASC ve kaspaz-1 etkileşime girerek IL-1β’nin aktifleşmesini sağlar (Ozen ve Bilginer, 2014).

2.2.4. Pirin Ailesi

Pirin homoloji bölgesi (PAAD, DAPIN ve Pyk bölgeleri olarak da adlandırılır) pirin gen ailesinin tüm üyeleri tarafından paylaşılan yapısal özellik gösteren bir bölgedir. İnsan genomunun analizinde pirin, kriyopirin, ASC, AIM2 ve PAN1-11’de dahil olmak üzere bu bölgeyi içeren yaklaşık 34 protein olduğu tahmin edilmektedir. Pirin bölgesi içeren proteinler, sitokin tepkileri, tümör bağışıklığı, apoptoz, otoimmünite ve inflamasyonda dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik olaylardan sorumlu tutulmuştur. Bu fonksiyonları birçok hücre içi sinyal sürecinin önemli düzenleyicisi olan NF-κB yolağını aktive ederek gerçekleştirirler. Biyokimyasal veriler pirin, kriyopirin ve ASC gibi pirin ailesi üyeleri, diğer pirin bölgesi içeren moleküler kompleksler için sinyal bileşenleri olarak görev yapmaktadır. Aynı zamanda pirin ailesi üyelerinin çoğu için,

pirin bölgesi genellikle doğal bağışıklık ve apoptoz ile ilişkili moleküllerde bulunan diğer yapısal bölgeler ile etkileşim halinde bulunur (Şekil 6). İmmünolojik sinyal yolları ile etkileşimlerinden dolayı pirin ailesi üyelerinde meydana gelen mutasyonlar bozulmuş bağışıklık ve otoinflamatuvar hastalılara neden olur (Shinkai ve ark., 2005).



Şekil 6. Pirin, kriyopirin, ASC, and NOD2 gibi inflamatuvar yolak ile ilgili moleküllerin yapısal bölgeleri. Pirin bölgesi, 6 sarmallı ölüm bölgesi (6-helix bundle DD-fold) süper ailesinin bir üyesidir. NACHT bölgesi, son derece korunmuş olan nükleotit bağlayıcı diziyeye sahiptir. Kısaltmalar; ZF(Zinc finger), Çinko parmak bölgesi; CC(Coiled coil), Sarmal sarmal bölgesi (Shinkai ve ark., 2005).

2.3. Sınıflandırma

Son yıllarda yeni tek genli (monogenik) otoinflamatuvar hastalıklar tanımlanmaya devam edilmektedir. Otoinflamatuvar hastalıkların sınıflandırılmasında iki farklı kriter kullanılmaktadır. Bu hastalıklar, temel klinik özelliklerine (periyodik ateş gibi) veya patogenezine (IL-1 veya NF-κB aktivasyon bozuklukları gibi) dayanarak sınıflandırılabilir (Ozen ve Bilginer, 2014).

Grup1. Temel klinik özelliklerine göre tekgen otoinflamatuvar hastalıklar.

Periyodik ateş hastalıkları;

- FMF (ailesel Akdeniz ateşi, familial Mediterranean fever, AAA)
- CAPS (kriyopirin ilişkili periyodik sendrom, cryopyrin-associated periodic syndromes)
- TRAPS (TNF reseptör ilişkili periyodik sendrom, TNF receptor-associated periodic syndrome)
- MKD/HIDS (mevalonat kinaz eksikliği/Hiper IgD Sendromu, Mevalonate kinase deficiency/ Hyper IgD syndrome)
- FCAS2 (ailesel soğuk otoinflamatuvar sendromu, familial cold autoinflammatory syndrome 2)

Piyojenik lezyonlu hastalıklar;

- DIRA (IL-1 reseptör antagonist eksikliği, deficiency of IL-1 receptor antagonist)
- PAPA sendromu (Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)
- Majeed sendromu

Granülomatoz lezyonlu otoinflamatuvar hastalıklar;

- Blau sendromu

Psöriazis ile birlikte olan hastalıklar;

- DITRA (IL-36 reseptör antagonist eksikliği, Deficiency of IL-36 receptor antagonist)

Pannikülitin indüklediği lipodistrofi hastalıklar;

- JMP (eklem kontraktürü, muskuler atrofi ve pannikülitin indüklediği lipodistrofi sendromu, joint contractures, muscle atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced childhood-onset lipodystrophy)
- CANDLE (lipodistrofi kronik atipikal nötrofilik dermatosis ve yüksek ateş, chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature)
- NNS (Nakajo-Nishimura syndrome)

Diğerleri;

- APLAID (PLC γ 2 ilişkili antikor eksikliği ve immun disregülasyon, PLC γ 2-associated antibody deficiency and immune dysregulation)

Grup 2. Patogenezine göre tek genli otoinflamatuvar hastalıklar.

IL-1 β regülasyonundaki defektler;

- FMF (ailesel Akdeniz ateşi, familial Mediterranean fever, AAA)
- CAPS (kriyopirin ilişkili periyodik sendrom, cryopyrin-associated periodic syndromes)
- MKD/HIDS (mevalonat kinaz eksikliği/Hiper IgD Sendromu, Mevalonate kinase deficiency/ Hyper IgD syndrome)
- PAPA sendromu (Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)
- Majeed sendromu
- DIRA (IL-1 reseptör antagonist eksikliği, deficiency of IL-1 receptor antagonist)

NF- κ B aktivasyonu ile bağlantılı hastalıklar;

- Blau sendromu
- FCAS2 (ailesel soğuk otoinflamatuvar sendromu, familial cold autoinflammatory syndrome 2)

Yanlış katlanmış protein hastalıkları;

- TRAPS (TNF reseptör ilişkili periyodik sendrom, TNF receptor-associated periodic syndrome)

IL-36 regülasyonu ile ilişkili hastalıklar;

- DITRA (IL-36 reseptör antagonist eksikliği, deficiency of IL-36 receptor antagonist)

IFN γ veya proteozom ile ilişkili hastalıklar

- JMP (eklem kontraktürü, musküler atrofi ve pannikülitin indüklediği lipodistrofi sendromu, joint contractures, muscle atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced childhood-onset lipodystrophy)

- CANDLE (lipodistrofli kronik atipikal n6trofilik dermatosiz ve y6ksek ateş, chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature)
- NNS (Nakajo-Nishimura syndrome)

Diğerleri;

- APLAID (PLC γ 2 ilişkili antik6r eksikliği ve immun disreg6lasyon, PLC γ 2-associated antibody deficiency and immune dysregulation)



2.4. Ailevi Akdeniz Ateşi

2.4.1. Tanım

Ailevi Akdeniz ateşi (Familial Mediterranean Fever, FMF; OMIM # 249100), dünya çapında 100 000'den fazla bireyi etkileyen, en yaygın gözlenen otoinflamatuvar kalıtsal bir hastalıktır ve otozomal çekinik olarak kalıtılmaktadır (Paut ve ark., 2000; Almeida de Jesus ve Goldbach-Mansky, 2013; Rigante ve ark., 2014;). İlk FMF hastası 1908 yılında Janeway ve Mosenthal tarafından 16 yaşında Yahudi bir kız olgunun bildirilmesiyle tanımlanmıştır (Janeway ve Mosenthal, 1908) ve 1945 yılında Siegal tarafından 10 hastadan oluşan vaka serileri yayınlanmıştır (Siegal, 1945). FMF; 6-96 saat içerisinde kendiliğinden düzelen ve tekrarlayan ataklarla seyreden, genellikle ateşin ve ağrının eşlik ettiği periton, plevra ya da sinoviyal inflamasyon ve/veya deri döküntüleri ile karakterizedir (Fonnesu ve ark., 2009). Ataklar yılda bir ile haftada bir arasında değişen aralıklarla periyodik olarak tekrarlar (Chae ve ark., 2006). Ailevi Akdeniz ateşi, Türkler, Ermeniler, Araplar ve Sefardik Yahudiler gibi daha çok Akdeniz kökenli toplumlarda görülmekle beraber genetik tanı testi uygulanmasıyla İtalyanlar, Polonyalılar, Almanlar gibi diğer etnik gruplarda da olgular bildirilmiştir (Sohar ve ark., 1967; Domingo ve ark., 2000; Kastner, 2005). FMF'in ülkemizde görülme sıklığı yaklaşık olarak 1/1000 ve taşıyıcılık oranı ise 1/5 olarak ifade edilmiştir (Turkish FMF study group, 2005; Yigit ve ark., 2008). Toplum genetiği çalışmalarında, FMF taşıyıcılık oranı, yüksek risk gösteren etnik gruplarda 1:5 dolaylarında bulunmuştur (Stoffman ve ark., 2000).

FMF semptomları, daha çok hayatın ilk on yılında ortaya çıkmaktadır. Bununla beraber hastaların %80'inden fazlasında çocukluk veya ergenlik döneminde gözlenirken, %5'inde ise 30 yaşından sonra görülmektedir (Kastner, 1998; Samuels ve ark., 1998).

Ataklar esnasında ateş ve seröz doku iltihabına yönelik bulgular, 1-4 gün sürer ve kendiliğinden kaybolur. Ataklar arasında ise hastalar genellikle semptom göstermez. Tekrarlayan ataklar, stres, ağır fiziksel aktiviteler, menstrüasyon ve enfeksiyonlara bağlı olarak değişebilir. Atakların sıklığı ve şiddeti, hastalar arasında ve hatta yaşamlarının farklı dönemlerinde bile değişiklik gösterebilmektedir (Majeed ve ark., 1989; Pras, 1998).

Histolojik incelemeler, etkilenen bölgelere polimorfonükleer lökosit göçü olduğunu, fakat antikor ve antijen spesifik T hücrelerinin genel olarak gözlenmediğini göstermiştir. Hastaların bir kısmında akut faz proteini SAA'nın yanlış katlanmış fragmentinin birikimi nedeniyle sistemik amiloidoz meydana gelebilir ve bunun sonucunda da böbrek yetmezliği ve ölüm gözlenebilir. FMF hastalarında vaskülit gelişme riski artabilir (Turkish FMF study group, 2005) ve *MEFV* mutasyonları, Behçet hastalığı (Imirzalioglu ve ark., 2005), inflamatuvar bağırsak hastalığı (Cattan ve ark., 2000) ve juvenil idiyomatik artrit (Ozen ve ark., 2003)) gibi hastalıklarda sağlıklı kontrollere göre daha sık gözlenebilmektedir.

2.4.2. Hastalık ile İlişkili Gen ve Pirin Proteini

FMF otozomal resesif olarak kalıtılır. Buna bağlı olarak yatay geçiş gösterir ve kuşak atlar. Ancak bazı populasyonlarda taşıyıcı frekansının yüksek ve akraba evliliklerinin sık olduğu durumlarda dikey kalıtım benzeri geçiş gözlenebilir. Pseudodominant kalıtıma benzeyen bu sonuç kalıtım kalıplarıyla ilgili çalışmalarda bazı araştırmacıların hastalığın otozomal dominant geçişli olduğunu ileri sürmelerine yol açmıştır (Yuval ve ark., 1995).

1997'de FMF'e neden olan *MEFV* geni, iki ayrı konsorsiyum tarafından pozisyonel klonlama yaklaşımı ile tanımlanmıştır. Gen, 16p13.3'de 3.232.028 - 3.246.627 nükleotidleri arasında yer almakta olup pirin veya meranostrin olarak adlandırılan proteini kodlamaktadır. Gendeki mutasyonların çoğu yanlış anlamlı (missense) mutasyonlardır. (The French FMF Consortium, 1997; The International FMF Consortium, 1997; Kastner, 2005).

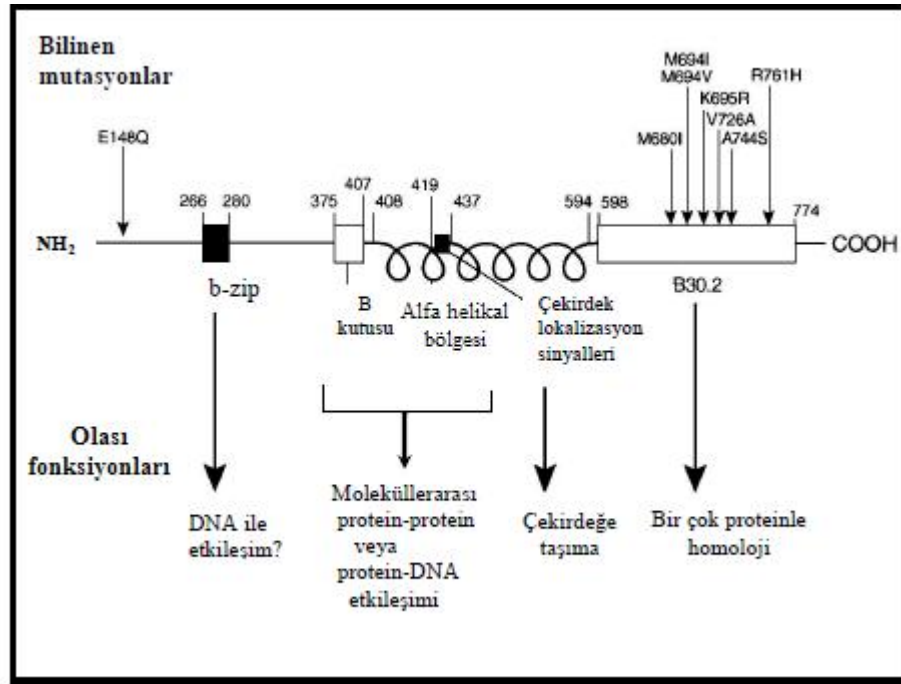
MEFV geni, 3505 nükleotid içermekte ve 10 ekzondan oluşmaktadır. Bu gen Uluslararası FMF konsorsiyumu tarafından Yunanca bir kelime olan ve “ateş” anlamına gelen “Pyrin” (The International FMF Consortium, 1997), Fransız FMF konsorsiyumu tarafından ise Latince bir kelime olan ve “bizim deniz” anlamına gelen “Marenostrin” adı verilen 781 amino asitlik bir proteini kodlamaktadır (The French FMF Consortium, 1997).

Infervers verilerine göre, bugüne kadar hastalığa neden olan 308 *MEFV* gen dizi varyantı bildirilmiştir (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infervers/>, 2015,). Bu mutasyonların hemen hemen yarısı düzenleyici protein-protein bölgesi olan B30.2 (SPRY) bölgesini

gösterilmiştir ve inflamasyonda baskılayıcı işlevi olduğu düşünülmektedir (Bakkaloğlu, 2003).

Şekil 8’de görüldüğü gibi pirin proteini, dört fonksiyonel bölge içermektedir (Samuels ve ark., 1998):

1. Amino (N) ucu PYRIN bölgesi (PAD, PyD veya DAPIN)
2. Bazık kutu çinko parmak bölgesi (B box zinc finger domain; BB-ZF)
3. Sarmal sarmal bölgesi (Coiled coil domain; CC),
4. Karboksi (C) ucu B30.2 bölgesi



Şekil 8. Pirin proteinin yapısı ve mutasyon bölgeleri (Samuels ve ark., 1998).

Yabanıl tip ve mutant pirin fonksiyonu için kesin moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılmasa da FMF’in belirgin inflamatuvar fenotipi ve belli toplumlar da yüksek taşıyıcılık frekansının gözlenmesi, pirinin doğal bağışıklığın düzenlenmesinde önemli olduğunu göstermektedir. Bu yaklaşım ile uyumlu olarak *MEFV* tarafından kodlanan pirin nötrofiller, eozinofiller, monositler ve dendritik hücrelerde yüksek oranda ifade edilirken lenfositlerde ifade edilmez (The French FMF Consortium, 1997; The International FMF Consortium, 1997; Centola ve ark., 2000; Diaz ve ark., 2004). Aynı şekilde, sinoviyal, periton ve cilt kaynaklı fibroblastlarda ifade edilir fakat kondrosit ya

da endotel hücrelerinde ifade edilmez (Diaz ve ark., 2004). Pirin'in hücre içi lokalizasyonu karmaşık görünmektedir. Transfeksiyonla hücreye verilen normal uzunluktaki pirin sitoplazmaya lokalize olurken exon 2'den yoksun alternatif 'splice' varyantı ile kodlanan nadir isoform ise çekirdeğe girebilir. Bunun dışında, yabancı tip pirin monositlerde sitoplazmik, fakat granüositler, dendritik hücreler ve sinovyal fibroblastlarda ağırlıklı olarak nükleerdir (Ting ve ark., 2006).

Pirin, kaspaz-1 aracılığı ile sitokin olgunlaşması sürecinde ASC ile etkileşim içerisindedir. Sitokin olgunlaşma süreci aktif makrofajlar ve monositler tarafından üretilen bir sitokin önmadde molekülünden aktif sitokin üretimini sağlar. Hücreden salgılanan aktif sitokin, proinflamatuvar gen ifadesini uyarır ve önemli bir pirojen olarak görev yapar (Tschopp ve ark., 2003).

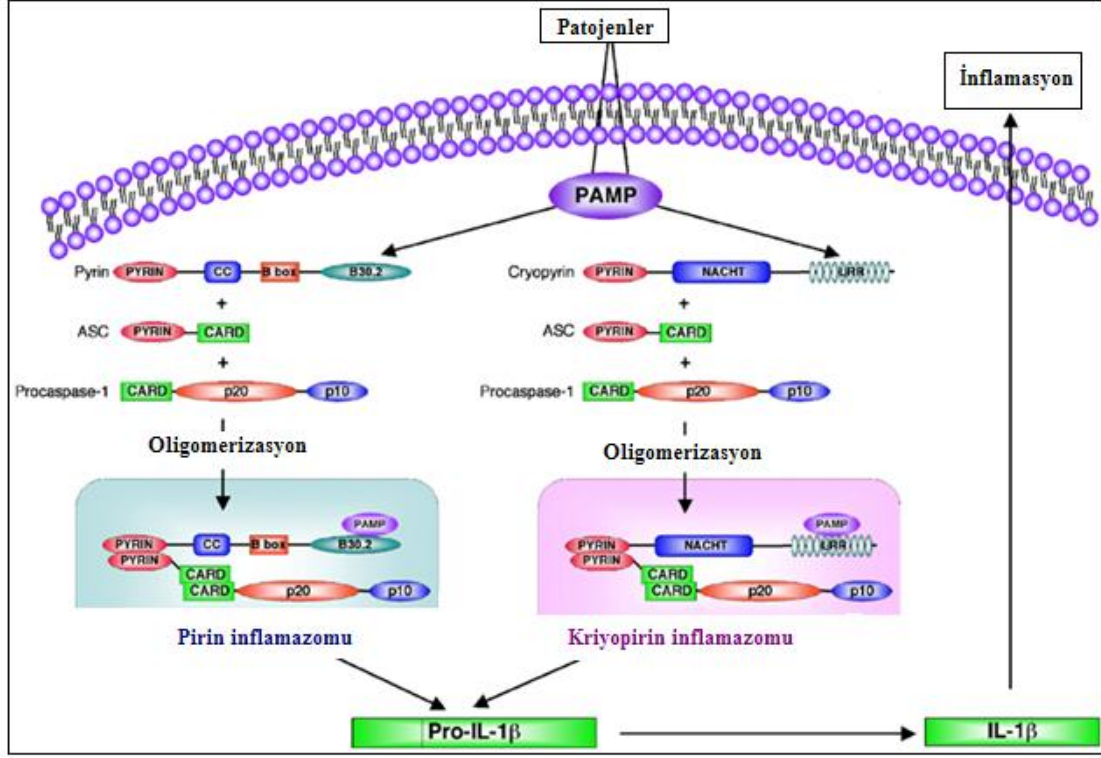
2.4.3. Patogenez

FMF, lokal ve sistemik inflamasyon ile ateşin yaşam boyu devam eden nöbetleri ile karakterizedir ve hastalık *MEFV* geninde gözlenen mutasyonlar sonucu oluşur. *MEFV* genindeki mutasyonlar, genin kodladığı hücre içi protein olan pirin proteininin fonksiyonunu etkiler (Masters ve ark., 2009).

Pirin proteininin 92 amino asitlik N-terminali, apoptoz ve inflamasyonda yer alan birçok proteinle homoloji gösterir. 195 amino asitten oluşan ve amino ucunda pirin bölgesi, karboksi ucunda CARD içeren (Centola ve ark., 2000) ve apoptotik hücrelerde "leke" şeklinde ifade edilen agregatların oluşumuna sebep olan (Gumucio ve ark., 2002) ASC proteiniyle ilişkili olduğu saptanmıştır. ASC'nin, pirin bölgesi sayesinde, diğer pirin içeren proteinlerle, protein-protein etkileşimine katıldığı gösterilmiştir (Jonathan ve Kastner, 1998). CARD bölgesi ise ASC'nin, fonksiyonel aktivitesinde önemli olduğu bilinen, IL-1 β 'nin işlenmesi ve salınması ile ilişkili prokaspaz-1'in oluşturulması ve aktivasyonunda rol alan bölgedir (Centola ve ark., 2000). ASC, prokaspaz-1'e (IL-1 β converting enzim) bağlanarak onun kümelenmesini ve otoaktivasyonunu sağlamaktadır. Aktif kaspaz-1, pro-IL-1 β 'yi IL-1 β 'ya dönüştürmektedir ve salınan IL-1, kendi reseptörüne bağlanarak inflamasyonu başlatmaktadır (Şekil 9).

Yabancı tip pirin, kaspaz-1 aktivasyonu ve IL-1 β işlenmesi için gerekli bir bileşen olan ASC'ye bağlanır. Pirinin, ASC'ye bağlanıp kaspaz-1 aktivasyonuna katılımını engelleyerek IL-1 β aktivasyonunu önlediği düşünülmektedir. Bununla birlikte

mutant pyrin ASC'ye bağlanma özelliğini kaybederek kaspaz-1 aktivasyonuna ve IL-1 β 'nin salınmasında artışa neden olarak inflamasyonu engelleyemez (Dinarello, 2011).



Şekil 9. Patojen enfeksiyonuna yanıt olarak pirin ve kriyopirin inflamazom oluşumunu gösteren model. PyD bölgesi bulunan proteinler apoptotik speck proteini (ASC) ile etkileşerek inflamasyonu düzenler. Pirin veya kriyopirin proteinleri B30.2 veya LRR bölgeleri ile PAMP'ları tanır ve ASC ve Pro-kaspaz-1 oligomerizasyonuna yol açar. Bu kompleks daha sonra inflamasyonu uyarıcı IL-1 β 'nin aktivasyonuna neden olur. ASC, apoptozda ve inflamasyon yanıtının hem baskılanmasında hem de düzenlenmesinde rolü olan NF-kappa transkripsiyon faktörünün aktivasyonunda etkilidir. Kısaltmalar; PAMP, Patojen ilişkili moleküler yapılar (Yu ve ark., 2006).

2.4.4. Klinik Özellikleri ve Tanı

Hastalık genellikle 1-3 gün arasında sürer ve akut karın ağrısı ve büyük eklem artritisi ile birlikte tekrarlayan ateş atakları ile karakterizedir (Ben-Chetrit ve Levy, 1998). Ateş atakları, yüksek derecede ateş (38,5-40°C) ve şiddetli halsizlik ile birdenbire meydana gelir (Padeh ve ark., 2010). Şiddetli karın ağrısı hastaların %95' inde görülür ve akut peritonit ikincil sırada gözlenir. Fizik muayenede hastalarda genellikle karın

şişliği ile yoğun karın ağrısı vardır ve FMF hastalarının %30-40'ında abdominal cerrahiye yol açtığı tahmin edilmektedir (Simon ve ark., 2005). Diğer gastrointestinal semptomlar arasında kabızlık ve ishal sayılabilir (Ben-Chetrit ve Levy, 1998a).

FMF hastalarının yaklaşık 3/4'ünde eklem tutulumu mevcuttur ve genellikle büyük alt ekstremitte eklemlerinin akut monoartriti görülmektedir (Younes, 2002). Ataklar sırasında miyalji, hastaların %10'unda ve tipik olarak alt bacaklarda gözlenmektedir. Bununla beraber fiziksel egzersiz ile tetiklenebilen miyalji görülmektedir. Dirençli ateşli miyalji ise nadiren gözlenebilir ve vaskulit nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Langevitz ve ark., 1994).

Peritonitin yanı sıra plörit ve perikardit sırasıyla hastaların yaklaşık %39 ve %2 sinde gözlenmektedir (Kees ve ark., 1997; Barski ve ark., 2012).

Genel olarak deri tutulumu değişkendir ve çoğunlukla yoktur. FMF'in en sık gözlenen deri belirtisi olan erizipel benzeri eritem hastaların %7-40'ında raporlanmıştır ve bir alt ekstremitte eritematöz döküntü ile karakterizedir (Ben-Chetrit ve Levy, 1998a).

FMF'de ateş, karın ve göğüs ağrısı gibi sık gözlenen klinik belirtiler, aile öyküsü ve kolşisin tedavisine verilen yanıtı göre tanı konur. Bununla birlikte *MEFV* genindeki mutasyonların belirlenmesi, kesin FMF tanısı için zorunludur (Almeida de Jesus ve Goldbach-Mansky, 2013).

Kısa süreli serözit ve ateş ataklarının varlığı, amiloidoz gelişimi ve kolşisin tedavisine alınan yanıtı göre Tel Hashomer tanı kriterleri oluşturulmuştur. Uygun klinik ve laboratuvar bulgularının varlığı, uygun etnik gruptan olma, kolşisine yanıt, başka bir nedene bağlı olmayan AA tipi amiloidozun varlığı, ataklar arası dönemde hastaların tamamen normal olması tanı için önemlidir. İlk tanı kriterleri 1967 yılında Sohar tarafından belirlenmiştir. Ancak günümüzde en sık kullanılan kriterler Tel Hashomer tanı kriterleridir. Tel Hashomer kriterlerinin yanısıra kullanılan bir başka kriter de 1998'de Avi Livneh ve arkadaşları tarafından önerilen kriterlerdir (Livneh ve ark., 1997; Gershoni-Barush ve ark., 2001; Stojanov ve Kastner, 2005).

FMF için Tel- Hashomer Kriterleri

Major kriterler:

- Peritonit, plevit veya sinovitin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları
- Başka bir nedene bağlı olmayan AA tipi amiloidoz varlığı

- Devamlı kolşisin tedavisine verilen olumlu yanıt

Minör kriterler:

- Tekrarlayan ateş atakları
- Erisipel benzeri eritem varlığı
- Birinci derece akrabalarda FMF varlığı

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

Olası tanı: 1 major + 1 minör kriter

Tel Hashomer kriterlerine göre FMF için kesin tanı iki majör veya bir majör ve iki minör kritere göre konur. Bununla beraber, eğer bir majör veya bir minör kriter sağlanmışsa, tanı olasıdır. Genetik tanı *MEFV* genindeki iki mutasyon varlığının belirlenmesi ile kesinleşir. Fakat aynı zamanda heterozigot mutasyon taşıyıcıları eksik veya tipik bir hastalık atakları gösterebilir. Beş önemli mutasyon (M694V, M680I, V726A, E148Q, M694I) hastalıkla ilişkili bütün mutasyonların %85'ini temsil etmesine rağmen, şimdiye kadar farklı klinik penetransı olan birçok başka mutasyon da bildirilmiştir (<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/> infevers, 2015; Rigante ve ark., 2014).

FMF atakları sırasında laboratuvar bulguları, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve CRP gibi akut faz reaksiyonlarında artış ile lökositoz varlığını işaret eder (Heler ve ark., 1961). Hastaların çoğunda ataklar arasında inflamasyon belirteçleri normaldir. AA tipi sekonder amiloidoz görülme oranı ülkeler arasında değişmekle beraber en sık gözlenen komplikasyonudur (Touitou ve ark., 2007). AA amiloidozun ortaya çıkışının *MEFV* geninin M694V mutasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rigante ve ark., 2014) ve Türk hastalarda sekonder amiloidoz sıklığının %13 olabileceği raporlanmıştır. Böbrekler en çok etilenen organlardır ve bu hastalarda kronik böbrek yetmezliğine yol açabilecek ilerleyici proteinüri ve nefrotik sendrom ortaya çıkabilir (Tunca ve ark., 2005). Sekonder amiloidoz, amiloid proteinin dokuda birikimi sonucu oluşur ve bu da sürekli artan serum amiloid A (SAA) seviyeleri nedeniyle meydana gelir (Lachmann ve ark., 2007).

FMF klinik olarak, tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom [tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated periodic syndrome (TRAPS)], hiperimmünglobulinemi D ve periyodik ateş sendromu [hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome (HIDS)], familial soğuk otoimmün sendromu/familial

soğuk ürtiker sendromu [familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS)/familial cold urticaria syndrome (FCUS)], Muckle-Wells sendromu [Muckle-Wells syndrome (MWS)], yeni doğan-geç başlangıçlı multisistem inflamatuvar hastalık/kronik infantil nörolojik deri ve eklem sendromu [neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID)/chronic infantile neurologic cutaneous and articular (CINCA) syndrome], Blau sendromu (Blau syndrome), piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum ve akne [(pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne syndrome, (PAPA)] sendromuna benzemektedir (Delpech ve Grateau, 2001; Kastner ve O’Shea, 2001; Padeh, 2005; <http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>, 2015).

2.4.5. Tedavi

FMF’in tedavisinde önerilen ilk seçenek kolşisinidir ve birçok durumda bu tedavi ile atak sıklığı, uzunluğu veya şiddetinin azaldığı veya tamamen düzelmenin sağlandığı gözlenmiştir. Ayrıca kolşisin tedavisinin böbrek amiloidozunu geciktirilebileceği veya önleyebileceği bildirilmiştir ve hamilelik sırasında güvenli olarak kabul edilmektedir (Ben-Chetrit ve Levy, 1998b). Kolşisine olumlu yanıt özellikle hafif derecede klinik özellik gösteren veya eksik genotip-fenotip korelasyonu olan vakalarda tanı konulmasında önemlidir. Aynı zamanda kolşisin tedavisine alınan yanıt, FMF tanısının konulmasında Tel Hashomer majör kriterlerinden birisidir. (Rigante ve ark., 2014).

İlacın yan etkileri; ishal, laktoz intoleransı kaynaklı kolşisin nedeniyle sık sık karın ağrısı, deri döküntüsü, lökopeni, trombositopeni, nöropati, miyopati ve karaciğer hasarıdır (Ben-Chetrit ve Levy, 1998b; Lidar ve ark., 2004).

Kolşisini tolere edemeyen veya kolşisine cevap oluşturmayan hastalar için, interlökin-1 inhibitörleri ikinci alternatif olarak kullanılmaktadır. Bir randomize plasebo-kontrollü çalışmada, son zamanlarda uzun etkili IL-1 inhibitörü rilonaceptinin, kolşisine dirençli veya hoşgörüsüz FMF hastaları için bir tedavi seçeneği olduğu ileri sürülmüştür (Moser ve ark., 2009; Hashkes ve ark., 2012). FMF atakları görünüşte sebepsiz olmasına rağmen stres, viral enfeksiyonlar ve beslenme gibi faktörler IL-1β salgılanmasını ve kaspaz 1 aktivasyonunu tetikleyebilir. Bununla ilişkili olarak IL-1 inhibitörleri daha hızlı bir şekilde hastanın normale dönmesinde etkili olabilmektedir. (Dinarello, 2011a).

2. 5. Kriyopirinopatiler

2.5.1. Tanımı

Kriyopirinopatiler veya kriyopirin ilişkili periyodik sendromlar (CAPS); ailesel soğuk ürtiker sendromu (FCAS), Muckle-Wells Sendromu (MWS) ve aynı zamanda kronik infantil, nörolojik, deri ve eklem (CINCA) sendromu olarak da adlandırılan yenidoğan başlangıçlı multisistem inflamatuvar hastalık (NOMID) olarak üç tipi vardır. Bu hastalıklar arasında klinik benzerlikler gözlenmektedir ve *NLRP3* (pirin bölgesi içeren NOD-benzeri reseptör ailesi 3, NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3)/*CIAS1* (soğuk kaynaklı otoinflamatuvar sendrom 1, cold induced autoinflammatory syndrome 1) genindeki mutasyonlar sonucu meydana geldikleri keşfedilmiştir. FCAS ve MWS’de kalıtım paterni genellikle ailesel iken, NOMID/CINCA’nın klinik olarak şiddetli fenotip gösteren hastalarında ise hastalık sporadiktir (Almeida de Jesus ve Goldbach-Mansky, 2013).

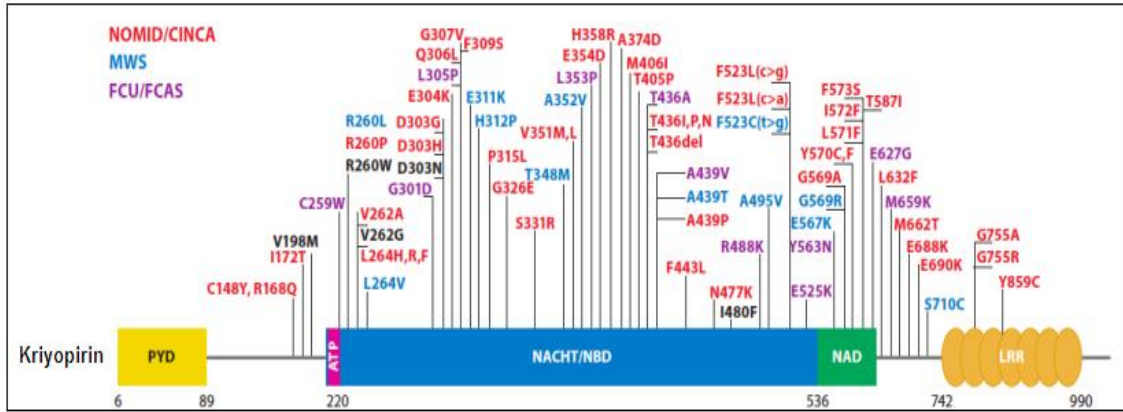
NLRP3/CIAS1 geni ilk olarak, FCAS’lı geniş aileler kullanılarak yapılan pozisyonel klonlama çalışmaları ile keşfedilmiştir. Nadir gözlenen ve otozomal dominant olarak kalıtılan hastalık genel olarak soğuğa maruz kaldıktan sonra ortaya çıkan ateş, döküntü, eklem ağrısı ve konjunktivit atakları ile karakterizedir (Hoffman ve ark., 2001a). O zamandan bu güne 90’dan fazla *NLRP3/CIAS1* mutasyonu FCAS’lı hastalarda tanımlanmıştır (Milhavet ve ark., 2008). CAPS olarak tanımlanan üç altfenotipin hepsi deri, eklem, kas, konjunktiva ve beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere birçok dokuda ateş, kan nötrofilisi ve lokalize nötrofilik inflamasyon ile karakterizedir. Ayrıca altfenotiplerin her birinde; FCAS’da soğuk kaynaklı semptomlar, Muckle-Well sendromunda sistemik amiloidoz ve işitme kaybı ve NOMID’de daha şiddetli santral sinir sistemi ve kemik tutulumu da dahil olmak üzere karakteristik klinik özellikler gözlenir (Aksentijevich ve ark., 2007).

CAPS ilişkili *NLRP3/CIAS1* mutasyonlarının otozomal dominant kalıtım modeli ile uygun olarak fonksiyon kazancı ile sonuçlandığı kabul edilir. Deneysel ve klinik veriler inflamazom aktivitesinde artış olduğunu göstermiştir, fakat bu mutasyonların temel moleküler mekanizmaları hala belirsizdir. Bu konuda yapılan çok sayıda in vitro ifade çalışmaları sonucunda birçok CAPS ilişkili mutasyonların, kaspaz-1 aktivitesi, IL-1 β salınması ve hücre ölümünün çeşitli formları gibi inflamazom aktivitesinde artış gösterdiği bildirilmiştir (Broderick ve ark., 2015).

2.5.2. Hastalık ile İlişkili Gen

NLRP3/CIAS1 olarak adlandırılan ve kriyopirin yada NALP3 (NACHT, LRR ve PYD bölgesi içeren protein 3) kodlayan gen, iki otozomal otoinflamatuvar hastalığın (FCAS ve MWS) genetik temelini araştırılması esnasında pozisyonel klonlama ile 2001 yılında 1q44'te 10cM boyutunda bir bölge de haritalanmıştır (Hoffman ve ark., 2001a; Wanderer ve Kolodner, 2001). Dokuz ekzonlu olan *NLRP3/CIAS1* geninin, 3105 bp'lik açık okuma çerçevesi bulunur (Hoffman ve ark., 2001b).

FCAS, MWS ve CINCA hastalarında *CIAS1* geninde benzer genotip-fenotip korelasyonu gösteren yaklaşık olarak 40 mutasyon tanımlanmıştır (Neven ve ark., 2004) ve Şekil 10'da gösterildiği gibi bunların çoğu merkezi NACHT bölgesinde bulunmaktadır (Fujisawa ve ark., 2007). Birçok spesifik mutasyon tek bir fenotiple ilişkilidir (FCAS, MWS, veya NOMID). Bununla birlikte aynı mutasyonlar hem FCAS hem de MWS'de gözlenmiştir (Neven ve ark., 2004). *CIAS1*'de oluşan bir mutasyonun, kriyopirinopatilerden hangisine neden olacağı kestirilemez. Örneğin; R260W mutasyonu, hem MWS hem de FCAS'ta, D303N mutasyonu ise hem MWS hem de NOMID'de bulunmuştur (Aksentjevich ve ark., 2002; Dode ve ark., 2002). V200M mutasyonu FCAS ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen (Hoffman ve ark., 2001b), başka bir çalışmada, görünüşte sağlıklı olan bireylerde gözlenebileceği veya MWS ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (Aganna ve ark., 2002). *CIAS1*'de mutasyon taşımayan klasik CAPS fenotipi gösteren hastalarda vardır ve bu diğer genlerin fenotipin ortaya çıkmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, tanımlanmamış veya diğer otoinflamatuvar hastalığa sahip hastalar ile inflamatuvar hastalığı olmayan hastalar da *CIAS1*'de bazı genetik varyasyonlar (örneğin; 198. pozisyonda metionin ile valinin değişimi, V198M) saptanmıştır (Ting ve ark., 2006).



Şekil 10. Kriyopirin mutasyonları hastalığın farklı şiddette fenotiplerinin oluşmasına neden olur. Şiddetli fenotip kırmızı ile gösterilen NOMID/CINCA, orta şiddetli fenotip mavi ile gösterilen MWS ve hafif şiddetli fenotip mor ile gösterilen FCAS mutasyonlarını göstermektedir. Bazı durumlarda, NOMID / CINCA ve MWS' yi ayırt etmek zordur (Masters ve ark., 2009).

2.5.3. Patogenez

NALP3 (Kriyopirin) proteini temel olarak, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin ana hücreleri olan periferik kan lökositleri ve kondrositlerde ifade edilmektedir. Bu protein homotipik protein-protein etkileşimi ile inflamasyon ve apoptozun düzenlenmesinde görevli ve FMF ile ilişkili pirin proteini ile benzer PYD bölgesi içerir (Hoffman, 2001c; Manji ve ark., 2002). Çok iyi anlaşılmamış olmasına rağmen kriyopirin, transkripsiyonel (NF- κ B) ve post-translasyonel (kaspaz-1) seviyede sitokin yanıtını düzenleyerek hücre sinyalinde rol oynar ve endojen sinyal ve bakteriyel ligandları algılar. Bu sinyaller bu hücrelerde sitokin yanıtını aktive eder. Bu yolak, hastalarda görülen sistemik ve doku inflamatuvar semptomlarının çoğunu açıklayabilir. Bununla birlikte, kriyopirin, insan kondrositlerinde ve farelerde deri ve gözlerde eksprese edilir (Feldmann ve ark., 2002; Anderson ve ark., 2004). CAPS'li hastalarda, kıkırdak büyümesi, inflamatuvar döküntüler ve oküler inflamasyon gibi semptomlar gözlenir. Bununla birlikte apoptozun düzenlenmesinde muhtemel rolü de dahil olmak üzere bu hücreler ve dokularda kriyopirin işlevi henüz aydınlatılamamıştır (Ting ve ark., 2006).

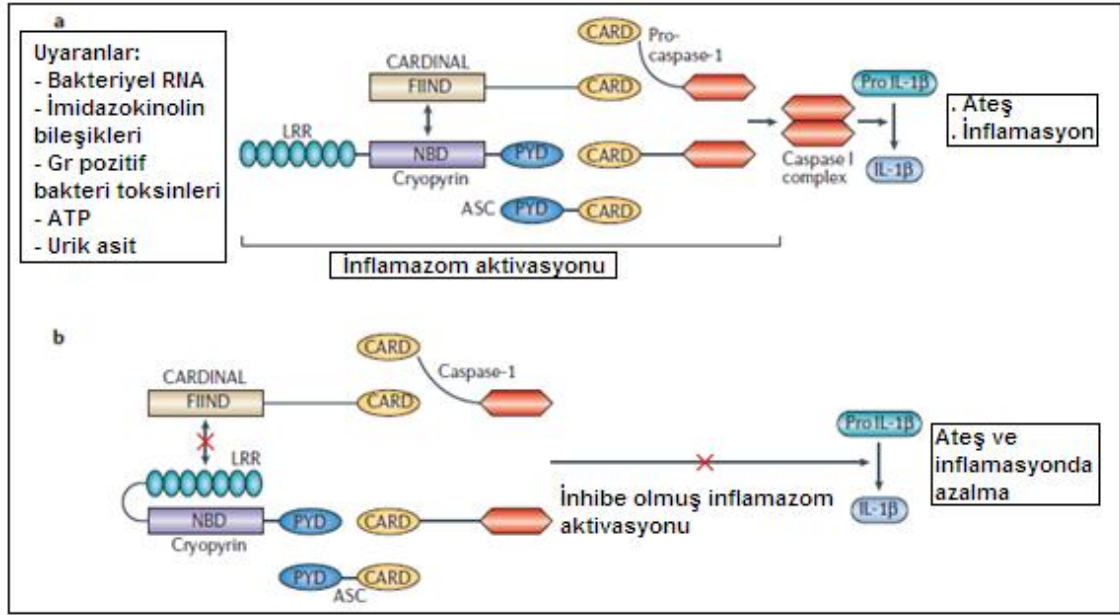
Şimdiye kadar, kriyopirin ve diğer CATERPİLLER proteinlerinin fonksiyonel analizi, bu proteinlerin çoğunun NF- κ B yolağı ile çakıştığını göstermektedir, fakat gerçek fonksiyonları netleştirilmemiştir. Bununla beraber, N-terminal pirin bölgesine sahip bazı genlerin, NF- κ B aktivasyonu üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğu

ifade edilmiştir (Bruey ve ark., 2004; Conti ve ark., 2005). N-terminal CARD bölgesine sahip diğer CATERPILLER genlerin (NOD2 gibi) NF- κ B'nin aktivasyonunda rol oynadığı yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Watanabe ve ark., 2004; Kobayashi ve ark., 2005; Maeda ve ark., 2005). In vitro çalışmalarda, kriyopirin'in ASC olarak adlandırılan ve diğer pirin bölgesi içeren proteinin varlığında NF- κ B'yi aktive ettiği gösterilmiştir (Manji ve ark., 2002; Dowds ve ark., 2003; Conti ve ark., 2005). Bununla birlikte, diğer pirin bölgesi içeren CATERPILLER proteinlere benzer şekilde kriyopirinin, ASC yokluğunda TNF ve TNF-reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF6) bağımlı (induced) NF- κ B aktivasyonu üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Stehlik ve ark., 2002; O'Connor ve ark., 2003; Yu ve ark., 2006)

PYPAF1 ve NALP3 olarak da adlandırılan *CIAS1*, polimorfonükleer hücreler, monositler ve kondrositler de ifade edilir ve T hücrelerinde aktiftir (Feldmann ve ark., 2002). Bu genin ürünü olan kriyopirin bir amino-terminal pirin bölgesi, merkezi bir konumda olan nükleotid bağlanma oligomerizasyon bölgesi (NOD, NACHT) ve birden fazla karboksi-terminal LRR bölgesi içerir. Kriyopirin sitozol'de lokalizedir ve PRR olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Memeliler de en iyi tanımlanmış PRR'ler toll-like reseptörlerdir ve bunlar ekstraselüler LRR'leri aracılığı ile PAMP'ları tanır (Takeda ve ark., 2003).

Kriyopirin, memeli PRR'lerinin başka bir sınıfına aittir ve bitkilerde hastalık direnci ile ilişkili NOD-LRR proteinleri (NLR) ile homologdur. İnsan genomunda 20'den fazla NLR kodlayan gen belirlenmiştir ve bunların çoğu amino-terminal bölgesinde CARD veya PYD bölgesine sahiptir (Fujisawa ve ark., 2007).

NLR ailesinin diğer birçok üyesi kaspaz-1 aracılı IL-1 β 'nin olgunlaşmasını uyarır ve bu da bu moleküllerin immün yanıt için sitoplazmik reseptör olarak işlev gördüğünü düşündürmektedir. NF- κ B düzenlenmesindeki görevinin yanı sıra kriyopirin, kaspaz-1'in aktivasyonunu sağlar ve ASC olarak adlandırılan adaptör protein aracılığı ile biyolojik olarak aktif olan IL-1 β 'nin oluşmasını sağlar (Dowds ve ark., 2004; Caorsi ve ark., 2013). Şekil 11'de kriyopirinin PYD ve NBD bölgeleri inflamazom olarak adlandırılan kompleks yapıda, post-translasyonel sitokin işlenmesini düzenleyen protein-protein etkileşimine katılır (Ting ve ark., 2006).



Şekil 11. Kriyopirin'in etki mekanizması. Kriyopirin, transkripsiyon ve translasyon sonrası düzeyde sitokinleri düzenler. Kriyopirin korunmuş 3 bölge içerir; -pirin bölgesi (PYD), -nükleotid bağlanma bölgesi (NBD), -lösence zengin tekrar (LRR) bölgesi. a) CARDINAL (CARD-inhibitor of nuclear factor- κ B-activating ligand) veya CARD 8'in FIIND (function-to-find) bölgesi ile NBD bölgesinin etkileşimi sırasında ASC'nin pirin bölgesi ile kriyopirinin bölgesi etkileşmektedir. Bu etkileşim CARD bölgesinin ilişkisine ve kaspaz-1'in aktivasyonuna izin verir. Bu da pro IL-1 β aktivasyonu ile sonuçlanır ve olgun form olan IL-1 β oluşur. b) Kriyopirin'nin LRR bölgesi NBD bölgesi ile kendi kendine etkileşir ve CARDINAL ile etkileşimleri engellenir. Bu durum inflamazom aktivasyonunun engellenmesine yol açmaktadır. Kriyopirin'nin NBD bölgesindeki mutasyonları inflamazom aktivasyonunda artışla sonuçlanabilir (Ting ve ark., 2006).

Kriyopirin mutasyonlarına sahip bazı hastalarda düzensiz sitokin üretimi gözlenmektedir. Pirin gibi kriyopirin de ASC ile etkileşerek sitokin üretimini aktive eder ve IL-1 β üretimini artırır. Kriyopirin ile ASC'nin etkileşimi aynı zaman da apoptoz ve NF- κ B aktivasyonuna yol açmaktadır. NF- κ B, sitokinler, kemokinler, adhezyon molekülleri ve akut faz reaktanları gibi çeşitli genlerin transkripsiyonel aktivatörü olarak apoptoz ve inflamasyonun önemli bir düzenleyicisidir ve derinin normal gelişimi ve homeostazisinde önemli rolü vardır (Shinkai ve ark., 2005).

2.5.4. Klinik Özellikleri ve Tanı

CAPS çoğu durumda erken çocukluk döneminde ortaya çıkmaktadır. Hastalığın erken başlangıçlı olması CAPS için güçlü bir göstergedir. Hastalık nadir gözlenir ve hafif belirtilere sahip bazı hastalarda CAPS tanısı genellikle gecikmektedir. Tanının doğru bir şekilde konulması etkili tedavi yönteminin uygulanabilmesi için önemlidir. Klinik olarak hastalık belirtileri gözleendiği durumlarda moleküler genetik testler ile NLRP3 genindeki mutasyonların belirlenmesi tanıyı doğrulamaktadır (Kuemmerle-Deschner ve Haug, 2013).

NOMID/CINCA sendromu nadir gözlenen ve erken başlangıçlı otoinflamatuvar bir hastalıktır. Bu sendrom MWS ve FCAS ile birlikte CAPS'in üç klinik semptomundan en şiddetli formudur. NOMID, neonatal başlangıçlı ürtiker benzeri deri döküntüsü, tekrarlayan ateş atakları, kronik aseptik menenjit, mental retardasyon, işitme kaybı, görme bozuklukları gibi merkezi sinir sistemi tutulumu, deri belirtileri, kronik inflamatuvar artropati ve lenfadenopati ile karakterizedir (Kanariou ve ark., 2014). FCAS, soğuğa maruz kaldıktan sonra ortaya çıkan kısa süreli ateş atakları, ürtikeryal döküntü ve atralji ile karakterizedir. MWS ise çocukluk çağından itibaren ortaya çıkan ürtiker benzeri döküntüler, ateş, titreme, halsizlik, ekstremitelerde ağrısının tekrarlayan atakları ile karakterizedir ve ilerleyen aşamalarda işitme kaybı ile amiloidoz gözlenebilmektedir (Caorsi ve ark., 2013).

CAPS'li hastalarda serum amiloid A ve C-reaktif proteinin miktarında artış ile ortaya çıkan sistemik inflamasyon gözlenir ve bu inflamasyon inflamatuvar sitokinlerin düzensizliği ile ilişkilendirilmiştir (Aksentijevich ve ark., 2002).

2.5.5. Tedavi

CAPS'de IL-1 β 'nın önemli bir rol üstlendiğinin anlaşılmasıyla hastalık, anakinra gibi IL-1 bloke edici ajanlar, çözülebilir IL-1 reseptörü (rilonacept) veya monoklonal antihuman IL-1 β (canakinumab) ile tedavi edilerek kontrol altına alınabilmektedir (Kanariou ve ark., 2014; Rubartelli, 2014).

2.6. Tümör Nekroze Edici Faktör Reseptör ile İlişkili Periyodik Ateş Sendromu (TRAPS; OMIM 142680)

2.6.1. Tanımı

Otozomal dominant periyodik ateş sendromları açıklanamayan ateş ve lokalize inflamasyon atakları ile karakterizedir ve 55 kDa'lık tümör nekroze edici faktör (TNF) reseptör geninde meydana gelen mutasyonların neden olduğu hastalıklar bunların bir grubunu oluşturmaktadır (McDermott ve ark., 1999).

İlk olarak 1982'de İskoçya ve İrlanda'da geniş bir aile de tanımlanan ve başlangıçta Ailevi Hibernian (Latince "İrlandalı" anlamında) Ateşi olarak adlandırılan hastalık tekrarlayan ve genellikle uzun süreli ateş ve ateşe eşlik eden şiddetli karın ağrısı, plörezi, artrit, cilt kızarıklıkları, monositik fasciitis (fasya iltihabı) ve/veya periorbital ödem ile karakterizedir (Williamson ve ark., 1982; Seth ve ark., 2009) ve klinik bulgular büyük bir değişkenlik göstermektedir (Cosan ve ark., 2013). Fakat bu otozomal dominant hastalığın genetik temeli ancak 1998 de keşfedilmiş ve *TNFRSF1A* geni tarafından kodlanan TNF reseptör 1 (TNFR1) ile olan ilişkisinden dolayı hastalık, TNF reseptör-ilişkili periyodik sendrom, TRAPS (OMIM # 142680) olarak adlandırılmıştır (Aksentijevich ve ark., 2001).

TNFRSF1A geninde, hastalığa neden olan 100'ün üzerinde mutasyon varlığı bilinmektedir ve otozomal dominant olarak kalıtılır. Sistein amino asitlerini etkileyen varyantları, daha şiddetli hastalık fenotipi ve amiloidoz gelişimi için daha yüksek bir risk ile ilişkilendirilmiştir (Aksentijevich ve ark., 2001; Almeida de Jesus ve Goldbach-Mansky, 2013).

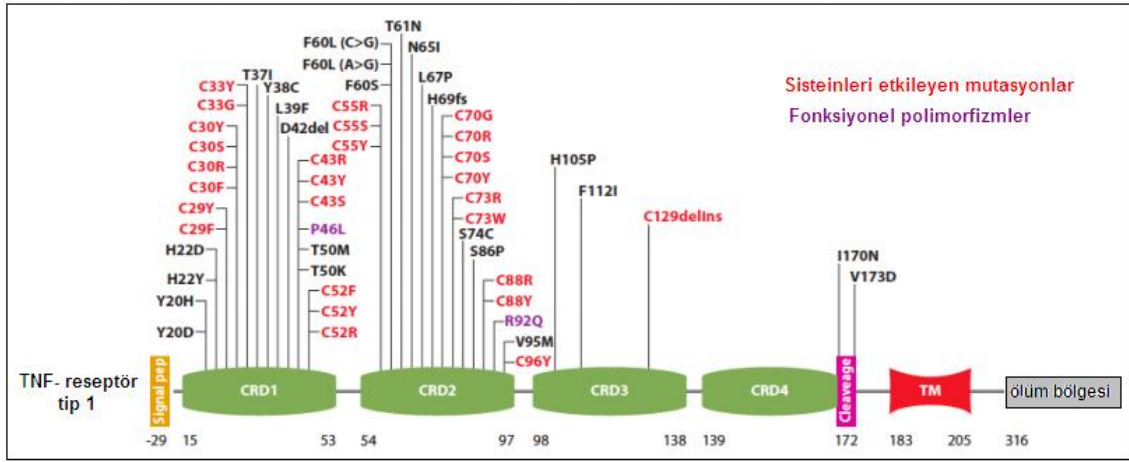
Mutasyon sonucu bu reseptörün hücre membranına translokasyonunda oluşan sorun sonucunda protein, endoplazmik retikulum içinde birikerek endoplazmik retikulum stresine yol açar. Başlangıçta hastalık etanercept ile tedavi edilmiş fakat tedavi oranındaki azlık nedeniyle daha sonra inflamasyonun kontrolünde anakinra ile yanıt alınmıştır. Bu nedenle TRAPS, IL-1 aracılı hastalık olarak kabul edilmektedir (Simon ve ark., 2004; Gattorno ve ark., 2008).

2.6.2. Hastalık ile İlişkili Gen

Hastalık, TNF reseptör1'i (*TNFRSF1A*, p55 ve CD120a olarak da bilinen TNFR1) kodlayan *TNFRSF1A* genindeki dominant kalıtılan heterozigot mutasyonlar sonucu oluşur (McDermott ve ark., 1999).

İskoçya/Avustralya ve İskoçya/İrlanda kökenli aileler ile yapılan iki farklı çalışmada hastalıktan sorumlu gen bölgesi 12p13 olarak belirlenmiştir ve 1999 yılında uluslararası bir araştırma konsorsiyumu tarafından, hastalıktan sorumlu gen, “Tümör Nekroze Edici Faktör (TNF)” için hücresele reseptör proteinini kodlayan *TNFRSF1A* olarak tanımlanmıştır (McDermott ve ark., 1999).

INFEVERS veritabanına göre (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers>, 2015), bugüne kadar en az 145 farklı *TNFRSF1A* dizi varyantı tespit edilmiştir. *TNFRSF1A* geni 10 ekson ve 13339 nükleotidden oluşur ve mutasyonların çoğu, ekson 2, 3, 4 ve 6'da tek nükleotid değişimi sonucu oluşan yanlış anlamlı mutasyonlardır (Rezaei, 2006). Bu mutasyonlardan biri intron 3'de splice site bölgesini değiştirir. Daha yakın zamanlarda iki delesyon (D42del, H69fs) aynı zamanda raporlanmıştır (Stojanov ve McDermott, 2005). Şekil 12'de gösterildiği gibi, TRAPS ilişkili mutasyonlar, özellikle reseptörün hücre dışı bölgesini etkiler ve çoğu, amiloidoz riski en yüksek olan ve en şiddetli hastalık fenotipi ile sonuçlanan sistein amino asitlerini etkiler (Masters ve ark., 2009). Hücre dışı (ekstraselüler) bölgede bulunan mutasyonların dışındaki bir mutasyon, transmembran bölgesine bitişik olan Asn172 ve Val 173 arasında reseptör kırılma bölgesine yakın olan I170N mutasyonudur (Kriegel ve ark., 2003). TRAPS ile ilişkili sistein mutasyonlarının, reseptör proteininin 92. pozisyonundaki arjinin amino asitinin glutamin amino asitine dönüşmesine neden olan R92Q mutasyonu şimdiye kadar tanımlanmış olan *TNFRSF1A* geni mutasyonları arasında TRAPS hastalarında en sık gözlenen mutasyondur (Hull ve ark., 2002).



Şekil 12. TNFR1’de dominant kalıtılan yanlış anlamlı mutasyonlar TRAPS’e neden olur. Hastalığın, proteininin ekstraselüler bölgesindeki ilk iki sisteince zengin bölgedeki hemen hemen bütün sistein amino asitlerini etkilediği bilinmektedir (kırmızı). Bu mutasyonlar, proteinin yanlış katlanmasına neden olabilmektedir ve bunlardan en az ikisi (I170N ve V173D) ektodomainin ayrılmasını etkileyebilir. Bu da reseptörün çözünür formunun oluşmasına neden olur. P46L ve R92Q (mor) muhtemelen fonksiyonel polimorfizmlerdir ve etkilenmeyen bireylerde de gözlenebilir (Masters ve ark., 2009).

Gen 455 amino asitlik reseptör proteinini kodlamaktadır. Bir membran glikoproteini olan *TNFRSF1A*’da ilk 29 amino asit sinyal peptidini, sonraki 182 amino asit hücre dışı bölgeyi, sonraki 21 amino asit transmembran bölgeyi ve en son 223 amino asitlik kısmı ise hücre içi bölgeyi oluşturur (Kastner, 2005).

2.6.3. Patogenez

TNF- α , hücre içi patojenlere karşı konak savunmasının sağlanmasında ve inflamasyonun yönetilmesi esnasında, IL-1 β , IL-6 gibi diğer inflamatuvar sitokinlerin sentezini uyararak, lökositleri aktive eden, adhezyon moleküllerinin ifadesini arttıran, apoptozisi düzenleyen majör inflamatuvar sitokindir (Karatay ve Melikoğlu, 2007). Aktif makrofaj, monosit, lenfosit, polimorfonükleer lökosit ve endotel hücreleri tarafından bir transmembran proteini olarak sentezlenir ve TNF- α - dönüştürücü (converting) enzim (TACE) ile proteolitik ayrılma sonucu çözünür TNF’ye dönüşür (Stjernberg-Salmela, 2008).

İnflamatuvar yanıt için önemli bir aracı molekül olan TNF, hücre içi patojenlere karşı ana savunma, lökosit aktivasyonu, sitokin salgılanmasının uyarılması ve adhezyon

moleküllerinin ifadesinde artış da dahil olmak üzere farklı etkilere sahiptir (McDermott ve ark., 1999; Stojanov ve McDermott, 2005). Bu sebeple TNF'nin üretimi ve sinyal yolağındaki herhangi bir hasar, otoinflamatuar düzensizliklere neden olur (Stojanov ve McDermott, 2005).

TNF- α için bilinen iki reseptörden biri olan TNFRSF1A, vücutta yaygın bir şekilde birçok hücre tipinde ifade edilir ve kromozom 12 p'de yer alır. Diğer reseptör olan TNFRSF1B (p75, TNFR2, CD120b) temel olarak lökositler ve endotel hücrelerinde ifade edilir ve kromozom 1p'de yer alır (Hull ve ark., 2002; Stojanov ve McDermott, 2005). TNF- α biyolojik işlevini büyük oranda *TNFRSF1A* ile gerçekleştirmektedir (Stjernberg–Salmela, 2008).

TNF sinyalinin ana bileşeni olarak *TNFRSF1A* dört tane sistein açısından zengin (CRD, cystein rich domain) hücre dışı bölge, transmembran bölgesi ve bir de 70 amino asitlik hücre içi ölüm bölgesi (DD, Death domain) içeren bir zar proteindir. İntraselüler bölgeler, hücre ölümü ve hayatta kalmayı başlatmak üzere farklı sinyal molekülleri kullanırken dört tane sisteince zengin bölgeden oluşan ekstraselüler bölge TNF'ye bağlanır (Şekil 13) (Rezaei, 2006; Stojanov ve McDermott, 2005). Ölüm bölgesi geniş bir yangı sitokin grubunun aktivasyonunu ya da hücre ölümünü indükleyen NF- κ B'yi harekete geçirmek için sinyal gönderen protein-protein etkileşim bölgesidir (Galon ve ark., 2000, Masters ve ark., 2006).

Her CRD bölgesi, TNF reseptör protein süper ailesinde iyi bir şekilde korunmuş olan üç tane sistein–sistein disülfid bağı içermektedir. TRAPS mutasyonları ağırlıklı olarak, hücre dışı CRD bölgesinde bulunur ve birçok olguda disülfid bağlarına katılan sistein amino asitlerini etkileyerek en yüksek amiloidoz riskine sahip olan hastalık tablosuna neden olmaktadır (Masters ve ark., 2006).

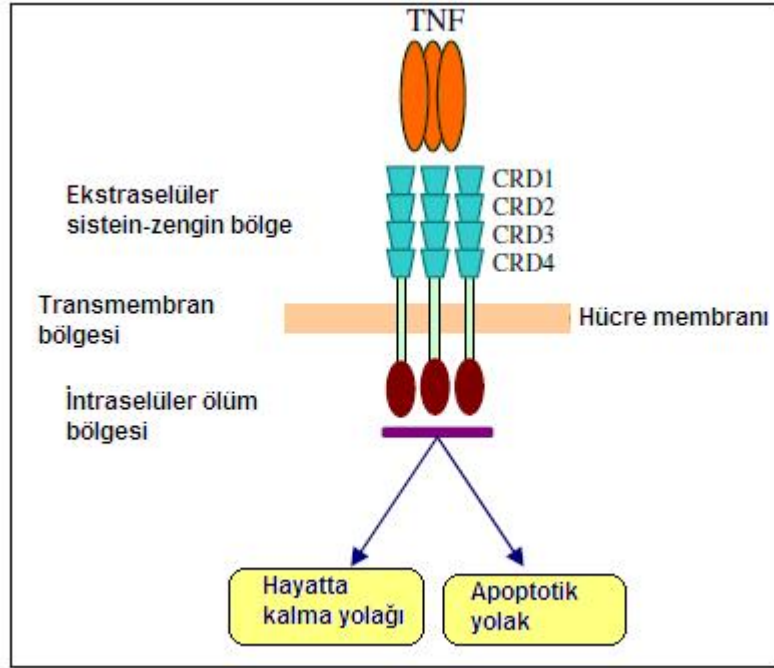
TRAPS'in altında yatan temel mekanizmalar;

-Aktif *TNFRSF1A*'nın hücre dışı bölgesinin hücre yüzeyinden ayrılmasında azalma (azalmış 'ayırılma–shedding' mekanizması),

-*TNFRSF1A*'nın hücre yüzey ekspresyonunda azalma ve bu azalmaya bağlı olarak, TNF bağlama kapasitesinde azalma

-Mutant *TNFRSF1A*'nın hücre içi tutulumu.

Bu mekanizmalar ile apoptoz, yangı ve transkripsiyon faktör aktivasyonunun anormal tetiklenmesinin gerçekleştiği düşünülmektedir (Stjernberg–Salmela, 2008).



Şekil 13. TNF reseptör süper ailesinin fonksiyon ve yapısı (CRD: Sisteince zengin bölge) (Rezaei, 2006).

TNFRSF1A'nın ekstraselüler bölgesi reseptör aktivasyonundan sonra hücre membranından ayrılabilir. Bu ayrılma mekanizması sonucu plazma içinde çözünebilir reseptörlerin bir havuzu oluşur ve bu da inflamatuvar yanıtı zayıflatabilir. Bu nedenle, *TNFRSF1A* mutasyonu olan hastalarda reseptörlerin plazma içine düşüşü (shedding) azalır (McDermott ve ark., 1997; Hull ve ark., 2002; Huggins ve ark., 2004; Stojanov ve McDermott, 2005)

Hastalık, *TNFRSF1A* genindeki yanlış anlamlı mutasyonlar sonucu oluşur. Bozulmuş reseptör bulaşması, hücre yüzeyine yakın hatalı intraselüler reseptör, anormal hücre yüzeyi ekspresyonu ve anormal ligand bağlanma, TNF, IL-1 ve IL-6 nin artan üretimi ile TNF-bağımsız hücre aktivasyonundaki bozulma, değişen NF- κ B yolu, mitojenle aktive olmuş protein kinazların artan aktivasyonu ve reaktif oksijen türlerinin fazla üretimi gibi birçok nedenle TNFR1'in yapısı ve stabilitesinin değişmesi hastalığa yol açabilir (Rigante ve ark., 2014).

2.6.4. Klinik Özellikleri ve Tanı

TRAPS'in klinik belirtileri çocukluk ve ergenlik döneminde (ortalama 10. yaş), daha sık başlar fakat hastalığın başlangıç yaşı 1 ile 63 yıl arasında değişebilir. TRAPS'de ateş ataklarının ortalama uzunluğu 14 gün civarındadır, fakat birkaç hafta da

sürebilir. Sıklıkla karın ağrısı ateş atakları ile birlikte (%77) gözlenir. FMF hastalarına benzer olarak şiddetli karın ağrısının ani başlangıcı yanlış tanıya neden olur ve karın ağrısı olan hastaların yaklaşık üçte biri karın operasyonu geçirir (Almeida de Jesus ve Goldbach-Mansky, 2013).

İnflamasyon, TRAPS hastalarında hemen hemen her zaman görülebilir, (asemptomatik periyotlarda bile). Klinik tablo değişkendir ve bir ay boyu süren ateş atakları, diğer HAID'den farklı, spontan olarak veya minör tetiklemelerden sonra meydana gelen cildi, kassal, eklemesel, karınla ilgili ve okular klinik tablolar ile karakterizedir (Cantarini ve ark., 2012). Tekrarlayan perikardit gösteren hastalarda ailede pozitif perikardit geçmişi ve kolsişine zayıf yanıt *TNFRSF1A* gen mutasyonlarının olası varlığının ipuçlarıdır (Cantarini ve ark., 2012). Klinik fenotip ile ilişkilendirilen yaklaşık 145 *TNFRSF1A* varyantı belirlenmiştir. P46L ve R92Q gibi düşük penetrens gösteren varyasyonlar daha düşük amiloidoz riski ve daha ılımlı klinik fenotip ile ilişkilendirilmiştir (Ravet ve ark., 2006).

TRAPS'de diğer yaygın gözlenen belirtiler arasında eklem ağrıları veya artrit (%51) ve plörezi (%32) vardır. Diğer nadir bildirilen özellikler ise skrotal ağrı, perikardit, faranjit ve servikal lenfadenopatidir (Stojanov ve McDermott, 2005). Ateş atakları sırasında laboratuvar sonuçlarında akut faz reaktanlarında (ESH, CRP ve SAA) artış, lökositoz ve trombositoz gözlenmektedir. Hastalığın şiddetine göre, inflamatuvar belirteçler semptomsuz dönemlerde artmış olarak kalabilir ve böyle şiddetli vakalarda kronik normokrom normositer anemi yaygındır. TRAPS'in kesin tanısı için *TNFRSF1A* genindeki mutasyon varlığını belirlemek zorunludur (McDermott ve ark., 1999).

Amiloidoz, TRAPS'in en ciddi komplikasyonudur ve uygun şekilde tedavi edilmeyen sistein kodonlarının etkilenmediği mutasyonlu hastaların %2'sinde ve sistein kodonunda mutasyon taşıyan hastaların %24'ünde meydana gelebilir. ABD kohortunda, TRAPS'li hastaların %14'ünde amiloidoz mevcuttur ve bunların %93'ü sistein kodonları mutasyonu taşır (Aksentijevich ve ark., 2001).

2.6.5. Tedavi

Otoinflamatuvar sendromların tedavisi, öncelikle akut atakların baskılanmasını, sonra da atak sıklığını ve süresini azaltmayı, ayrıca amiloidoz gibi ciddi kalıcı organ tutulumlarını önlemeyi amaçlamaktadır (Bulua ve ark., 2012). TRAPS'de akut atak

sirasındaki ağrı ve yangının kontrol altına alınmasında glukokortikosteroidler oldukça etkilidir. TRAPS atağının başlangıcında verilen kortikosteroidler atağın uzunluğunu ve şiddetini azaltır, fakat atak sıklığına etkisi yoktur. Anti-tümör nekroz faktör inhibitörü etanercept, hastalık aktivitesini azaltabilir ve kortikosteroid dozajının azalmasını sağlayabilir (Cantarini ve ark., 2010). Diğer bir tedavi alternatifi, yine yangısal bir sitokin olan IL-1 β 'yı bloke etmek için kullanılan IL-1 β reseptör antagonisti olan anakinradır. FMF'de kullanılan temel tedavi olan kolşisinin, TRAPS'de semptomlar üzerindeki etkisinin minimum düzeyde olduğu bildirilmiştir (Karatay ve Melikoğlu, 2007).

2.7. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Geni (VEGF)

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süper ailesinin üyesi olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ailesi endotel hücreleri için özgüldür ve önemli etkileri vardır. Vücutta hem fizyolojik olaylarda hem de tümör büyümesi ve yayılmasını da içeren patolojik birçok hastalıkta rol oynar (Bikfalvi, 2004).

VEGF'nin seçici olarak endotel hücrelerinde mitojenik etki ile damar gelişimini uyarmasının yanı sıra morfogenez ve kemotaksiste de önemli roller üstlendiği bilinmektedir (Bikfalvi, 2004). Anti-apoptotik proteinlerin sentezinin artması veya anti-apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile yeni damar oluşumunda oldukça önemli rol oynar (Centola ve ark., 2000).

Bir dizi sitokin, hormon ve büyüme faktörü çeşitli hücre tiplerinde VEGF mRNA ekspresyonunu artırır. VEGF mRNA ifadesinin uyarılması, epidermal büyüme faktörü, Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β) veya keratinosit büyüme faktörü kontrolündedir. Epidermal büyüme faktörü, kültüre edilmiş glioblastoma hücreleri tarafından VEGF salınımını uyarır. Aynı zamanda, TGF- β ile epitelyum ve fibroblastik hücre hatlarının hareketsiz kültürlerinin muamelesi VEGF mRNA'nın indüksiyonu ve mediumda VEGF proteininin salınması ile sonuçlanır. Hem IL-1 α hem de prostaglandin E2'nin, kültüre edilmiş sinoviyal fibroblastlarda VEGF'nin ekspresyonuna neden olmaları onların inflamatuvar anjiyogenezine uyarıcı olarak katıldıklarını düşündürmektedir. IL-6'nın çeşitli hücre hatlarında VEGF ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığı gösterilmiştir (Ferrara, 1999).

VEGF-VEGFR sistemi, anjiyogenez ve lenfanjiyogenez ile yakından ilişkilidir. VEGFR1, monositler gibi makrofaj grubundan hücrelerin membranı üzerinde iyi ifade

edilir ve bu hücrelerin sitokin/kemokin üretimi ve göçü için önemli olan sinyalleri iletirler. Bu VEGF1-makrofaj eksenine, çeşitli dokularda görünüşte non-inflamatuar ve inflamatuar yanıtları uyarır ve proanjiojenesis aracılığı ile tümör büyümesi, tümör metastazı, lenfanjiyogenez, artrit ve ateroskleroz gibi hastalıkları teşvik eder. VEGFR1 bağımlı inflamatuar ve non-inflamatuar reaksiyonlar, tam uzunlukta (full-length) ve VEGFR1'in çözünür formları arasında gen ifadesinin dengesi ile düzenlenir. Birlikte ele alındığında bu veriler, VEGF-VEGFR sinyali, inflamasyon dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların bastırılması için önemli bir hedef olduğunu göstermektedir (Shibuya, 2015).

İnsan *VEGF* geni 7 introndan oluşur ve kromozom 6p21.3'de lokalizedir. Molekül ağırlığı 45 kDA olan bu sitokini kodlayan gen 14kb'lık bir transkript kodlar (Tischer ve ark., 1991; Brogan ve ark., 1999; Ferrara, 1999; Renner ve ark., 2000; Gunesacar ve ark., 2008;). Bu transkriptten alternatif splicing ile en az beş VEGF kodlanabilir. Bunlar sırasıyla 121, 145, 165, 189 ve 206 amino asit içeren VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆'dır (Ferrara, 1999). *VEGF* geninin çeşitli fonksiyonel polimorfizmlerinin düşük veya yüksek VEGF protein üretimi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Brogan ve ark., 1999). *VEGF* geninin 936. pozisyonunda 3' UTR bölgesinde C/T polimorfizmiyle ilgili olarak, T aleli taşıyanlarda taşıyıcı olmayanlara göre VEGF plazma seviyelerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (Renner ve ark., 2000).

VEGF, endotel hücre proliferasyonu, lökosit kemotaksisi ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyaran bir sitokindir ve aynı zamanda vasküler geçirgenliğin önemli bir mediatörüdür (Ferrara, 1999). Farklı dokulara lökosit göçüne neden olan inflamatuar reaksiyonları güçlendirir. VEGF'nin nötrofillerde doğrudan aktive olduğu gösterilmiştir ve inflamasyon sırasında lökositlerin akut istihdamını teşvik edebilir (Zittermann ve Issekutz, 2006).

Ailesel akdeniz ateşi'nde akut inflamasyonda yer alan ana hücre grubunun nötrofiller olduğu ve bu hücrelerde VEGF'nin rolünün önemli olduğu bilinmektedir (Gunesacar ve ark., 2008). Bu nedenle yaptığımız çalışmada, *VEGF* geni 936C/T polimorfizminin genotip ve alel frekansını belirleyerek FMF'de klinik özelliklerin oluşumunda fonksiyonel rolünü araştırmayı amaçladık.

2.8. İnsan Köpüksü Virüsü (Human Foamy Virüs, HFV)

Köpüksü virüsler (Foamy viruses, FV), 1954 yılında Enders ve Peebles tarafından maymun böbrek kültürü hücrelerinden elde edilmiş olan ilk retrovirüslerdir (Enders ve Peebles, 1954) Spumavirüsler olarak da bilinen FV'ler Retroviridae familyasının bir alt familyasına aittir. Bu virüsler insan, maymun, sığır, kedi ve at gibi diğer memelilerde yaygın olarak gözlenmektedir (Hu ve ark., 2014). FV patojenitesini belirlemek için yapılan birkaç çalışma bu virüslerin patojenik olduklarını göstermiştir (Weiss, 1988). Yanlışlıkla bulaşmış laboratuvar çalışanlarının varlığı, insanların FV'ler tarafından enfekte olabileceğini göstermiştir, fakat insandan insana bulaş raporlanmamıştır.

Bu retrovirüslerden biri olan insan köpüksü virüsü (human foamy virüs, HFV) 1971 yılında Achong ve ark. tarafından Kenya kökenli, nazofarenks karsinomlu bir hastanın lenfoblastoid hücrelerinden izole edilmiştir (Achong ve ark., 1971; Lee ve ark., 1998). Daha sonraki yıllarda HFV'ler toksik ensefalopati, kronik miyeloid lösemi ve bazı tiroit hastalığı olan hastalardan da izole edilmiştir (Wick ve ark., 1992; Lee ve ark., 1998). Anti-HFV antikorları, DeQuervain tiroidi, nazofarenjal karsinoma, amiyotrofik lateral skleroz ve multiple skleroz olan hastalarda tespit edilmiştir. Ayrıca graves hastalığı ve miyastenia gravis olan hastalarda, periferik lenfositlerde polimeraz zincir reaksiyonu ile bu virüs için pozitif bulgular gösterilmiştir (Sun ve ark., 2006).

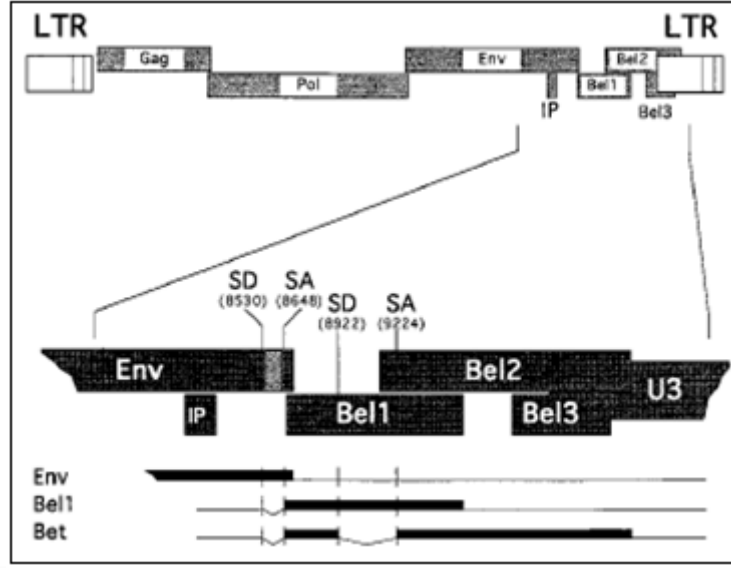
Retrovirüs enfeksiyonlarının otoimmün romatizmal hastalıklar için olası etiyolojik faktörlerden biri olduğu ifade edilmesine rağmen temel etken olarak insan immün yetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus, HIV) gibi Lentivirinae ve insan T-hücresi lösemi virüsü (human T-cell leukemia virus, HTLV) gibi Onkovirinae üyeleri gösterilmiştir (Sun ve ark., 2006). Bununla beraber Spumavirinae'nin bir üyesi olan HFV varlığı myastenia gravis'li hastalar da raporlanmıştır (Meiering ve Linnal, 2001). Bu veriler HFV'nin otoimmünite de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

2012'ye kadar yapılan çalışmalar çoğunlukla insan ya da maymun epitel hücre hatları kullanılarak yapılmıştır. O yıllara kadar virüse karşı insan hematopoietik hücrelerin oluşturduğu tepki bilinmemekle beraber Rua ve ark., FV'lerin insan hematopoietik hücrelerinde tip1 interferon (IFN) yanıtını tetiklediğini ve doğal immün yanıtı indüklediğini göstermiştir (Rua ve ark., 2012).

HFV'nin genom organizasyonu ve nükleotid dizi analizi HIV ve HTLV ile önemli bir benzerlik göstermektedir. HFV genomu gag, pol ve env olmak üzere üç önemli retroviral gen içerir. Bunların dışında, env geni ve 3' uzun tekrarlayan terminal dizi (long terminal repeat, LTR) arasında lokalize olan, en az dört açık okuma çerçevesine (ORF) sahip, bel1 (tas), bel2, bel3 ve bet olarak adlandırılan transaktivasyon proteinlerini kodlayan başka genler de içerir (Şekil 14) (Rethwilm ve ark., 1991; Yu ve Linial, 1993).

Bel-1 açık okuma çerçevesi tarafından kodlanan ve düzenleyici protein olan viral Bel-1 transaktivatör proteininin insan, maymun, fare ve kuşlardan elde edilen hücre hatlarında etkili olarak işlev gösterdiği ifade edilmiştir. Bel-1'in hücre çekirdeğinde fakat çekirdekçiğin dışında lokalize olduğu tespit edilmiştir (Keller ve ark., 1991). Bel-1 gen ürünü LTR'nin yönlendirdiği transkripsiyon için bir transkripsiyonel transaktivatör olarak tanımlanmıştır ve viral replikasyon ile gen ekspresyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir. LTR ve internal promotörlerden transkripsiyon için zorunlu olmasından dolayı bel 1 enfeksiyon için önemlidir (Löchelt ve ark., 1993). Bel-1 ve bet genlerinde meydana gelen bir delesyon HFV'nin enfektivitesini önlemektedir (Löchelt ve ark., 1991). HFV bel bölgesini taşıyan transgenik fareler de merkezi sinir sistemi ve çizgili kaslarda ilerleyici dejeneratif hastalık geliştiği bildirilmiştir ve bu hayvanların 4-6 hafta içinde öldükleri raporlanmıştır. Transgenin ifadesi yapısal hasar ve inflamatuvar reaksiyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Hastalığın oluşmasında HFV proteinlerinin doğrudan etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu bulgular, virüsün insanlarda patojenik potansiyeli olabileceğini göstermektedir (Bothe ve ark., 1991).

FV'lerin moleküler klonlaması sonucu retrovirüsler arasında en uzun genoma sahip oldukları bulunmuştur. HFV genomu, 11.67 kb uzunluğunda doğrusal RNA'ya sahiptir ve ters (revers) transkriptaz ile oluşan çift zincirli DNA genellikle konakçı hücreye entegre olmaz. Diğer retrovirüslerde olduğu gibi entegre olmamış viral DNA birikiminin FV enfeksiyonu sonrası görülen sitopatik etkilerden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. HFV'nin genomik yapısı diğer kompleks retrovirüs genomları ile benzerlik göstermektedir (Saïb ve de Thé, 1996).



Şekil 14. HFV genom organizasyonu. Kodlayıcı bölgeler koyu çizgiler ile kodlayıcı olmayan bölgeler ise ince çizgiler ile gösterilmiştir. (Lindemann ve Rethwilm, 1998).

Çin’de yapılan bir çalışmada HFV ve otoimmün romatizmal hastalıklar arasındaki ilişkiyi belirlemek için, progresif sistemik skleroz (PSS), romatoid artrit (RA) ve sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında HFV ‘nin varlığı Bel-1 duyarlı indikatör hücre hattı ve PCR teknikleri kullanılarak incelenmiş ve sonuçta romatizmal hastalığı olan bu hastalarda HFV bel1 geni ve proteininin ekspresyonunun yükseldiği gösterilmiştir (Sun ve ark., 2006). Japonya’da yapılan başka bir çalışmada da çalışılan üç FMF hastasının hepsinin HFV ile enfekte olduğu gösterilmiştir (Tamura ve Kira, 1995).

Enflamasyonun kontrolünden sorumlu olan mekanizmalardaki değişimler patolojik olaylarla ilişkilendirilmiştir. İnflamatuar süreç, sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir ve IL-1 β bu süreçte oldukça önemli bir rol oynamaktadır. IL-1 β üretimi, iki sinyal sonucu gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi; TLR gibi PRR’lerden biri tarafından aktive olan NF- κ B’nin aracılık ettiği transkripsiyonel aktivasyon, ikincisi ise; inflamazom olarak adlandırılan sitoplazmik kompleks tarafından uyarılan ve pro-kaspaz-1’in aktivasyonu ile sonuçlanan proteolitik olgunlaşma (Hernandez ve ark., 2014). Bugüne kadar NLRP3, AIM2, IFI-16 ve RIG-I-bağımlı inflamazomların viral enfeksiyonlar esnasında aktive oldukları bilinmektedir (Gram ve ark., 2012). Çeşitli virüsler, kaspaz-1’in aktivasyonu aracılığı ile IL-1 β salgılanmasını uyararak NLRP3

inflamazomunun antiviral başışıklık yanıtındaki potansiyel rolünü artırmaktadır. Son dönemlerde yapılan çalışmalarda HIV-1'in sağlıklı donörlerden alınan dendritik hücrelerde NLRP3, IL-1 β ve kaspaz-1'in mRNA ekspresyonunu uyardığı bildirilmiştir (Hernandez ve ark., 2014). Yine yapılan farklı çalışmalarda da RNA virüslerinin NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği ifade edilmiştir. Ensefalomiyokardit virüsü (EMCV) ile veziküler stomatit virüsünün (VSV), NLRP3 bağımlı IL-1 β salınmasını uyardığı raporlanmıştır (Rajan ve ark., 2011). FMF, IL-1 β regölasyonundaki düzensizliklerin neden olduğu otoinflamatuvar bir hastalıktır. RNA virüslerinin IL-1 β salınmasını uarması ile ilişkili olarak, bir RNA virüsü olan HFV'lerin bu mekanizma aracılığı ile FMF'in klinik özelliklerinin oluşumunda etkili olabileceği düşünölebilir.

Bununla beraber Influenza virüsü, Sendai virüsü, hepatit C virüsü ve adenovirüs gibi çeşitli virüslere karşı doğuştan gelen bağışıklık yanıtı, inflamazom aktivasyonu yoluyla IL-1 β üretimi ile gerçekleştirilmektedir. Inflamazom, PAMP veya DAMP'ları algılayan sitozolik bir kompleksdir ve pro-IL-1 β 'nın IL-1 β şeklinde olgunlaşmasını sağlayan kaspaz-1'in aktivasyonunu uyarmaktadır. Makrofajlar, mikroglia hücreleri ve astrositlerde IL-1 β 'nın ekspresyonunun bir retrovirüs olan İnsan T-lenfotropik virüs-1 transaktivatör proteini ile tetiklendiği bildirilmiştir (Kamada ve ark., 2014).

FMF, kalıtsal bir hastalık olmasına rağmen klinik olarak hastalık belirtileri gösterdiği halde en yaygın gözlenen *MEFV* gen mutasyonlarından hiçbirini taşımayan birçok hasta vardır. Bu nedenle bu hastalığın oluşumunda genetik etmenlerin dışında patolojik faktörlerin de etkili olabileceğini ve inflamazomların viral enfeksiyonlar esnasında aktive olduğunu ifade eden farklı çalışmalar vardır. Bu alışmalar doğrultusunda ve Japonyada yapılan çalışmada üç FMF hastasının üçünün de HFV ile enfekte olduğunun bildirilmesi üzerine biz de HFV'nin FMF'in klinik semptomlarının oluşumundaki etkisini incelemeyi amaçladık.

FMF otozomal resesif geçişli bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hastaların yaklaşık %25'i sadece bir *MEFV* geni mutasyonu taşımalarına rağmen %10-20'si herhangi bir *MEFV* geni mutasyonu taşımamaktadır. FMF tanısı öncelikli olarak klinik kriterlere göre yapılmaktadır. *MEFV* geni mutasyonu taşımayan fakat klinik olarak FMF özelliği gösteren hastalarda hastalığın ortaya çıkma nedeni iki olası görüş ile açıklanmıştır. Bunlardan birincisi; pirin ile aynı metabolik yolağın bir parçası olduğu düşünülen ve henüz bilinmeyen genetik defektler, İkincisi ise; ilişkili olan diğer otoinflamatuar hastalıklar (Ben-Zvi ve ark., 2015). Bu tez çalışmasında, farklı kliniklerden *MEFV* gen mutasyon analizi için laboratuvarımıza gönderilen ve yaygın görülen 12 *MEFV* geni mutasyonu (E148Q, P369S, F479L, M680IG/C, M680IG/A, I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H) açısından taranan bireyler Tel-Hashomer kriterlerine göre değerlendirilmiştir. İncelenen bu kriterlere göre kesin tanı alan hastalar, mutasyon taşıyan ve taşımayan olmak üzere iki grup olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Türkiye'de ve diğer ülkelerde *MEFV* gen mutasyonlarının görülme frekanslarını araştıran farklı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, Orta Doğu'da FMF hastalarının %85'inden fazlasının M694V, M694I, M680I, V726A ve E148Q *MEFV* mutasyonlarından birine sahip oldukları ifade edilmiştir (Ben-Chetrit ve Touitou 2009). Federici ve ark.'ları da (2012) yayınladıkları derleme makalede beş mutasyonun, tüm *MEFV* gen mutasyonlarının %85'ini oluşturduğunu ifade etmiştir. Türkiye'de de *MEFV* gen mutasyonunun frekansını araştıran farklı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, Türkiye'de en sık gözlenen mutasyonlar M694V, V726A, M680I, E148Q, R761H ve P369S olarak raporlanmıştır (Uluca ve ark., 2015). Bu mutasyonların FMF hastalarında görülme frekansı diğer mutasyonlara oranla oldukça yüksektir. Bu araştırmalar, bakılan 12 *MEFV* geni mutasyonunun toplumda görülebilecek *MEFV* geni mutasyonlarının en az %95'ini oluşturabileceklerini göstermektedir. Bu oran da, baktığımız 12 *MEFV* geni mutasyonunu taşımayan fakat Tel-Hashomer kriterlerine uygunlukları nedeniyle FMF fenotipi gösteren hastalarda diğer otoinflamatuar genlerin mutasyona uğramış olmaları ve bu nedenle FMF fenotipi benzeri fenotip gösteriyor olmaları olasılığını akla getirmektedir. Bu düşünce doğrultusunda yaptığımız çalışmada *MEFV* geni mutasyonu taşımayan FMF hastalarında, hastalık fenotipinin oluşumunda diğer otoinflamatuar gen mutasyonlarının,

VEGF genindeki polimorfizmin ve insan köpüksü virüs varlığının etkisi araştırılmıştır. Tez kapsamı içine alınan çalışmalar yurtdışında değişik araştırma grupları tarafından ayrı ayrı ele alınmış olmasına karşın, tümünün tek bir popülasyonda, tek bir merkezde ve tek bir proje kapsamında yürütülmesi Dünyada ve Türkiye 'de ilk kez yapılmaktadır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışmaya Tel-Hashomer kriterlerine (Livneh ve ark., 1997) göre kesin tanı alan ve *MEFV* geninde yaygın olarak görülen 12 mutasyondan ikisini taşıyan 223 hasta ile yine aynı kriterlere göre kesin tanı alan fakat bu mutasyonlardan hiç birini taşımayan 209 kontrol dahil edildi. Çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Etik Kurul onayı alındı (Ek-1). Ayrıca her kan örneği için hasta onam formu (Ek-2) ve FMF hasta bilgi formu (Ek-3) dolduruldu.

3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Mikrosantrifüj (Herolab, MicroCen 13D, Almanya)
- Termal Döngü Cihazı (ABI/PRISM Applied Biosystem, GeneAmp PCRSystem9700, U.S.A)
- Steril Eppendorf tüpler
- Steril PCR tüpleri
- Otomatik pipetler (Socorex, EAN13, İsviçre)
- Steril plastik pipet uçları
- Benmari (Nüve, Türkiye)
- Agaroz jel elektroforez tankı
- Vorteks (Karıştırıcı) (Velp Scientifica, Avrupa)
- +4 °C soğutucu (Profilo, BD4307ANFE, Almanya)
- -20 °C derin dondurucu (Regal, CF2101, Türkiye)
- Steril eldiven
- Yatay Elektroforez Sistemi (Scie-Plas,814093, İngiltere)
- Elektroforez için güç kaynağı (Wealtec, Elite300 Plus, U.S.A)
- UV transillüminatör (Vilber Laurmat, TFX 20 M, Fransa)
- Görüntü analiz sistemi (Uvitec, BTX-26 M, İngiltere)
- Santrifüj (Sanyo MSE, Centaur 2, UK)
- Hassas Terazı (Adam Aqument, WP250, Almanya)
- pH metre (Hanna, Almanya)
- Isıtıcı (Stuart Scientific, S.M.3, UK)

- Etüv (Dedeoğlu, Türkiye)

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroğ (Vivantis)
- Borik Asit (Sigma)
- dNTP karışımı (Vivantis)
- EDTA (etilendiamintetraasetik asit, disodyum) (Merck)
- Etanol (Sigma)
- Etidyum Bromür (Sigma)17
- KCl (Sigma)
- 100 bp'lik DNA Marker (Vivantis)
- VC Puc19/MspI DNA Marker (Vivantis)
- DNA izolasyon kiti (Vivantis)
- 10XPCR buffer (Fermentas)
- Sukroz (Sigma)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas)
- PCR Primerleri
- 10X *Hin*III restriksiyon enzim tamponu (Fermentas)
- 10X *Alu* I restriksiyon enzim tamponu (Fermentas)
- 10X *Bcn*I restriksiyon enzim tamponu (Fermentas)
- *Hin*III restriksiyon endonükleazı 5U/μl (Fermentas)
- *Alu*I restriksiyon endonükleazı 10 U/μl (Fermentas)
- *Bcn*I restriksiyon endonükleazı 10U/μl (Fermentas)
- Proteinaz K (Vivantis)
- Magnezyum Klorür (Fermentas)
- Sodyum Hidroksit (Merck)
- NaCl (Merck)

3.4. Çalışmada Kullanılan Stok Solüsyonlar

A) 5 M EDTA, pH 8,0

- 18,61 g disodyum EDTA
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
- Solüsyona 2 g NaOH tableti atılarak eritilir.
- pH 8'e ulaştığında bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

B) Doymuş NaCl (6M) Solüsyonu

- 7 gr NaCl
- 20 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

C) 1M Tris pH 7,5

- 12,11 g Tris-base
- 80 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
- pH HCl ile 7,5'e ayarlanır.
- Bidistile H₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.
- Otoklavda steril edilir.
- Oda ısısında saklanır.

3.5. Çalışmada Kullanılan Elektroforez Solüsyonları

A) 10 X TBE (Stok Solüsyonu)

- 108 g Tris-base (0,9 M).
- 55 g Borik asit (0,9 M).
- 40 ml 0,5M EDTA, Ph 8,0 (20Mm).
- Tris-base ve borik asit 700 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
- EDTA eklenir.
- Bidistile H₂O ile 1000 ml'ye tamamlanır.
- Oda ısısında saklanır

B) 1X TBE (Çalışma Solüsyonu)

- 100 ml 10X TBE stok solüsyonu.
- 900 ml bidistile H₂O.

C) Etidyum Bromür Solüsyonu (10mg/ml)

- 1 g etidyum bromür.
- 10 ml bidistile H₂O içinde çözülür.
- Işık almayan bir şişe içinde +4 °C'de saklanır.
- Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

3.6. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Periferik kandan DNA izolasyonu için Vivantis GF-1 DNA İzolasyon Kiti kullanıldı. DNA izolasyonu için çalışma ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere 200 µl periferik kan alındı. Kanlar aşağıda belirtilen DNA izolasyon (GF-1 DNA İzolasyon Kiti) protokolü uygulanarak işleme alındı.

3.6.1. DNA İzolasyonu için Uygulanan Protokol

- Mikrosantrifüj tüpüne 200 µl kan ve 200 µl Blood Lysis Buffer konulup vorteksle tamamen karıştırıldı.
- Bu mikrosantrifüj tüpüne 20 µl Proteinaz K eklendi ve vorteksle karıştırıldı.
- Tüp 65 derecede 10 dakika tutuldu.
- 200 µl absöü alkol konulup homojen olana kadar vorteksle karıştırıldı.
- Tüp içeriği temiz toplama tüpü içindeki yükleme kolonuna konuldu.
- 5.000 X g de 1 dakika süreyle santrifüj yapıldı.
- Kolondan geçen solüsyon atıldı.
- Kolon üzerine 500 µl Wash Buffer I konuldu.
- 5.000 X g de 1 dakika süreyle santrifüj yapıldı.21
- Kolondan geçen solüsyon atıldı.
- Kolon üzerine Wash Buffer II konuldu.
- Maksimum hızda 3 dakika süreyle santrifüj yapıldı.
- Kolondan geçen solüsyon atıldı.
- Kolon temiz bir santrifüj tüpüne konuldu ve üzerine önceden ısıtılmış

Elution Buffer eklendi.

- Oda ısısında 2 dakika beklenildikten sonra, 5.000 X g de 1 dakika süreyle santrifüj yapıldı.
- Elde edilen DNA solüsyonları -20⁰ C' de saklandı

3.7. Kullanılan Moleküler Tanı Teknikleri

3.7.1. PCR (Polymerase Chain Reaction) Amplifikasyonu

Polimeraz zincir tepkimesi (PCR), DNA içerisinde bulunan ve nükleotid dizisi bilinen iki bölge arasındaki özel bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan yöntemdir. Metot genel olarak, tüp içerisinde ilgili bölgenin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. Bir çeşit "in vitro klonlama" olarak da tanımlanan PCR; 94°C - 98°C aralığında gerçekleştirilen denatürasyon, 37°C - 65°C aralığında gerçekleştirilen bağlanma (annealing) ve 72°C'de gerçekleştirilen uzama aşamalarından oluşan ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanmasına dayanan bir yöntemdir. PCR yönteminde çoğaltılmak istenen DNA bölgesine spesifik olan ve primer olarak adlandırılan başlatıcı DNA oligonükleotidleri geliştirilmiştir. Bu oligonükleotidler, belli dizilere sahiptir ve sentetik olarak üretilebilen moleküllerdir.

Çalışmada Human foamy virüsü varlığı (Sun ve ark., 2006) PCR tekniği ile belirlendi.

3.7.2. Jel Elektroforezi ve PCR Ürünlerinin Yürütülmesi

%2'lik agaroz jel elektroforezi şu şekilde yapıldı.

- 2,6 gr agaroz tartılarak 250 ml'lik bir erlenmayere kondu ve üzerine 130 ml 1XTBE tamponu eklendi. Mikrodalga fırınında agar eriyene kadar yaklaşık 1,5 dakika tutuldu ve kaynatıldı.
- Eriyen agaroz jel solüsyonu oda ısısında bekletilerek yaklaşık 70-75°C'ye kadar soğutuldu ve 130 µl etidyum bromür ilave edildi.
- Daha önceden tarakları, tabanda yaklaşık 1mm boşluk kalacak şekilde yerleştirilen elektforez kabına hazırlanan agaroz jel döküldü ve donması için oda sıcaklığında 20-30 dk. bekletildi.
- Taraklar her iki uçtan tutularak dikkatlice çıkartıldı ve jel kabı elektforez tankına yerleştirildi.

- Jelde ortaya çıkan kuyucuklara total 12 µl olacak şekilde PCR ürünleri ve uygun DNA markeri (10 µl PCR ürünü + 2 µl 6X loading dye) aktarıldı.
- Elektroforez güç kaynağı 130 volt'da 30 dakika süreyle çalıştırıldı.
- Ortaya çıkan bantlar, ultraviyole (UV) transilliminatörde marker ve DNA'ların gittikleri mesafeler okunarak, DNA parçacıklarının uzunlukları hesaplandı. UV görüntü analiz sisteminde sonuçlar kaydedildi.

3.7.3. PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) Yöntemi

Bu yöntem, *MEFV* geni mutasyonlarının tanısında daha yaygın kullanım alanı bulmuş moleküler bir yöntemdir (Yiğit ve ark., 2008). Mutasyonun araştırılacağı gen bölgesi, PCR/RFLP yöntemiyle mutasyonu içine alacak şekilde çoğaltılır. Önceden uzunluğu bilinen genomik DNA parçası çoğaltıldıktan sonra mutasyona özgü olan restriksiyon endonükleaz enzimi yardımıyla kesilir ve ortaya çıkan ürünler, DNA parçalarının büyüklüğüne bağlı olarak agaroz ya da poliakrilamid jelde elektroforez işlemiyle yürütülür. Jel, UV ile görüntülenir ve kesim noktalarına göre uzunlukları önceden bilinen parçalar değerlendirilerek mutasyonların varlığı ya da yokluğuna karar verilir. Hedef gen bölgesindeki nokta mutasyonu, çoğaltılan DNA'da seçilen restriksiyon enziminin tanıma bölgesine özgülse mutasyonlu üründe kesim gerçekleşirken normal üründe kesim gerçekleşmez ve kesilen ürünlere sahip bireyler mutasyon taşıyan bireyler, diğerleri ise normal olarak değerlendirilir.

Çalışmada *VEGF* geni 936 C/T polimorfizmi (Cheng ve ark., 2008), *CIAS1* geni L307P mutasyonu (Aganna ve ark. 2002) ve *TNFSRF1A* geni R92Q mutasyonu (Marek-Yagel ve ark., 2010) PCR-RFLP metoduyla araştırıldı.

3.7.4. Jel Elektroforezi ve RFLP Ürünlerinin Yürütülmesi

%3,5'lik agaroz jel elektroforezi, %2'lik agaroz jel ile benzer şekilde hazırlandı. Sadece agaroz miktarı 4,55 gr olarak kullanıldı.

- Jel hazırlandıktan sonra jelde ortaya çıkan kuyucuklara total 23 µl olacak şekilde RFLP ürünleri ve uygun DNA markerı (20 µl RFLP ürünü + 3µl 6X loading dye) aktarıldı.
- Elektroforez güç kaynağı 130 volt'da 40 dakika süreyle çalıştırıldı.

- Ortaya çıkan bantlar UV transilliminatorde marker ve DNA'ların gittikleri mesafeler okunarak, DNA parçacıklarının uzunlukları hesaplandı. UV görüntü analiz sisteminde sonuçlar kaydedildi.

3.7.5. PCR ve PCR-RFLP Yöntemlerinde Kullanılacak Primer Dizileri

İncelenecek farklı mutasyonlar ve human foamy virüs varlığı için kullanılacak referans primerler, yapılan literatür taraması sonucuna göre belirlenerek ticari olarak sentezletirildi. Liyofilize halde gelen ve çalışmada kullanılacak stok primer derişimleri, 10 pmol/μl olacak şekilde steril bidistile su ile çözüldü.

3.7.6. CIAS1 Geni L307P Mutasyonlarının İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi

Yaptığımız çalışmada, CIAS1 geninde yaygın gözlenen ve daha hafif fenotiple ilişkilendirilmiş mutasyonlardan biri olduğu için L307P mutasyonunu inceledik (Aksentijevich ve ark., 2007). Bu amaçla kullanılan primerler Tablo1'de, PCR reaksiyon karışım içeriği Tablo 2'de ve PCR programı Tablo 3'te verilmektedir.

Tablo1. Kullanılan primer dizileri

İleri (Forward) Primer: 5'- GAT CGT GAG AAA ACC CTC CA - 3'
Ters (Revers) Primer: 5'- GCA GCA AAC TGG AAA GGA AG - 3'

Tablo 2. PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)	Son Konsantrasyon
PCR tamponu (10 X)	2.5	1.0X PCR
MgCl ₂ (25mM)	2.0	2.0 mM
Primer F (10 pmol/µl)	0.20	2 pmol
Primer R (10 pmol/µl)	0.20	2 pmol
dNTP'ler (10 mM)	0.50	0.2 mM
Genomik DNA (50 ng/ µl)	5.0	
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.4	2 U
Steril bidistile su	14.2 µl	
Toplam Hacim	25 µl	

Tablo 3. PCR programı

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	15 dk.	1
Denatürasyon	94	45 sn.	
Primer bağlanması	60	45 sn.	35
Zincir uzaması	72	1 dk.	
Son uzama	72	10 dk.	1

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde ayrıştırılarak görüntülendi ve 489 bp'lik ürün varlığı gözlemlendi.

3.7.7. *CIAS1* Geni L307P Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi

CIAS1 geni L307P mutasyonunun incelenmesi için *AluI* restriksiyon enzimi kullanıldı. PCR sonucu elde edilen ürünlerin uygun tampon ve kesim enzimi ile karışım miktarları Tablo 4'de verilmektedir.

Tablo 4. *CIAS1* geni L307P mutasyonunun RFLP reaksiyon karışımı

Mutasyon Çeşidi	RFLP Enzimi	Uygun Tampon	PCR Ürünü	Bidistile Su	Toplam
L307P	<i>AluI</i> 10 U	10×Buffer Tango 2 µl	8 µl	9 µl	20 µl

RFLP reaksiyon karışımı ile kesim işlemi için hazırlanan enzim ve PCR ürünü karışımı (toplam 20 µl) 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Görüntülemek için kesim ürünü üzerine 3 µl yükleme boyası (loading dye 6X) eklenerek daha önceden hazırlanmış olan % 3,5’lik agaroz jelde yürütülerek ortaya çıkan bantlar UV transillüminatör ile görüntülenerek sonuçlar kaydedildi.

AluI restriksiyon endonükleazının tanıma bölgesi:

5’...A G ↓C T...3’

3’...T C ↑G A...5’

AluI restriksiyon enzimi, normal alelde bulunan iki tanıma bölgesinden keserek 52bç, 99bç ve 338bç’lik üç bant oluşumunu sağlarken; mutant alelde 151bç ve 338 bç’lik 2 parçacık (fragment) oluşumuna neden oldu.

3.7.8. *TNFRSF1A* Geni R92Q Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi

TNFRSF1A geninde TRAPS ile ilişkilendirilmiş 60’dan fazla mutasyon raporlanmıştır. Bunlardan R92Q, TRAPS’li hastalarda en sık gözlenen mutasyondur ve farklı inflamatuvar fenotipler ile ilişkilendirilmiştir (Caminero ve ark., 2011). Bu nedenle yaptığımız çalışmada *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonunu incelemeyi amaçladık. Bu çalışma için kullanılan primerler Tablo5’de, PCR reaksiyon karışım içeriği Tablo 6’da ve PCR programı Tablo 7’de verilmektedir.

Tablo 5. Kullanılan primer dizileri

Forward: 5'-CAC TGC ATG GAT GTG AGT GTG TAT -3'

Revers: 5'-GTT GGT TGT CAG ACC CAG AGA ATA -3'

Tablo 6. PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)	Son Konsantrasyon
PCR tamponu (10 X)	2.5	1.0X PCR
MgCl ₂ (25mM)	2.0	2.0 mM
Primer F (10 pmol/µl)	0.10	1 pmol
Primer R (10 pmol/µl)	0.10	1 pmol
dNTP'ler (10 mM)	0.50	0.2 mM
Genomik DNA (50 ng/ µl)	5	
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.4	2 U
Steril bidistile su	14.4 µl	
Toplam Hacim	25 µl	

Tablo 7. PCR programı

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	5 dk.	1
Denatürasyon	94	30 sn.	
Primer bağlanması	62	30 sn.	35
Zincir uzaması	72	30 sn.	
Son uzama	72	10 dk.	1

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde ayrıştırılarak görüntülendi ve 380 bç'lik ürün varlığı gözlemlendi.

3.7.9. *TNFRSF1A* Geni R92Q Mutasyonunun İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi

TNFRSF1A geni R92Q mutasyonunun incelenmesi için *BcnI* restriksiyon enzimi kullanılmıştır. PCR sonucu elde edilen ürünlerin uygun tampon ve kesim enzimi ile karışım miktarları Tablo 8’de verilmektedir.

Tablo 8. *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonunun RFLP reaksiyon karışımı

Mutasyon Çeşidi	RFLP Enzimi	Uygun Tampon	PCR Ürünü	Bidistile Su	Toplam
R92Q	<i>BcnI</i> 10 U	10×Buffer Tango 2 µl	10µl	7µl	20 µl

RFLP reaksiyon karışımı ile kesim işlemi için hazırlanan enzim ve PCR ürünü karışımı (toplam 20 µl) 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Görüntülemek için kesim ürünü üzerine 3 µl yükleme boyası (loading dye 6X) eklenerek daha önceden hazırlanmış olan % 3,5’lik agaroz jelde yürütülerek ortaya çıkan bantlar UV transillüminatör ile görüntülenerek sonuçlar kaydedildi.

BcnI restriksiyon endonükleazının tanıma bölgesi:

5’... C C ↓S G G...3’
3’... G G S↑ C C ...5’
S: C veya G

BcnI restriksiyon enzimi, normal alelde bulunan tek tanıma bölgesinden keserek 153 bp ve 227 bp’lik iki bant oluşumunu sağlarken; mutasyon, tanıma bölgesini ortadan kaldırdığı için, mutant örneklerde 380 bp’lik allel boyutunda bir değişiklik gözlenmedi.

3.7.10. *VEGF* Geni 936C/T Polimorfizmi İncelenmesinde Kullanılan PCR Yöntemi

Bu amaçla kullanılan primerler Tablo 9’da, PCR reaksiyon karışım içeriği Tablo 10’da ve PCR programı Tablo 11’de verilmektedir.

Tablo 9. Kullanılan primer dizileri

Forward: 5'- AAG GAA GAG GAG ACT CTG CGC -3'
Revers: 5'- TAT GTG GGT GGG TGT GTC TAC AGG -3'

Tablo 10. PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)	Son Konsantrasyon
PCR tamponu (10 X)	2.5	1.0X PCR
MgCl ₂ (25mM)	2.0	2.0 mM
Primer F(10 pmol/µl)	0.10	1 pmol
Primer R(10pmol/µl)	0.10	1 pmol
dNTP'ler (10 mM)	0.50	0.2 mM
Genomik DNA (50 ng/ µl)	5	
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.4	2 U
Steril bidistile su	14.4 µl	
Toplam Hacim	25 µl	

Tablo 11. PCR programı

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	12 dk.	1
Denatürasyon	95	30 sn.	
Primer bağlanması	57	40 sn.	35
Zincir uzaması	72	30 sn.	
Son uzama	72	10 dk.	1

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde ayrıştırılarak görüntülendi ve 198 bç'lik ürün varlığı gözlemlendi.

3.7.11. *VEGF* Geni 936C/T Polimorfizmi İncelenmesinde Kullanılan RFLP Yöntemi

VEGF geni 936C/T polimorfizminin incelenmesi için *Nla*III restriksiyon enzimi kullanılmıştır. PCR sonucu elde edilen ürünlerin uygun tampon ve kesim enzimi ile karışım miktarları Tablo 12’de verilmektedir.

Tablo 12. *VEGF* geni 936C/T polimorfizmi için RFLP reaksiyon karışımı

Polimorfizm Çeşidi	RFLP Enzimi	Uygun Tampon	PCR Ürünü	Bidistile Su	Toplam
936C/T	<i>Nla</i> III 5 U	10 ×Buffer Tango 2 µl	10µl	7µl	20 µl

RFLP reaksiyon karışımı ile kesim işlemi için hazırlanan enzim ve PCR ürünü karışımı (toplam 20 µl) 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Görüntülemek için kesim ürünü üzerine 3 µl yükleme boyası (loading dye 6X) eklenerek daha önceden hazırlanmış olan % 3,5’lik agaroz jelde yürütülerek ortaya çıkan bantlar UV transillüminatör ile görüntülenerek sonuçlar kaydedildi.

*Nla*III restriksiyon endonükleazının tanıma bölgesi:

5’... C A T G ↓ ...3’

3’... ↑G T A C ...5’

*Nla*III restriksiyon enzimi, polimorfik bölgede bulunan tek tanıma bölgesinden keserek 114 bp ve 84 bp’lik iki bant oluşumunu sağlarken; normal alelde kesim gerçekleşmez ve 198 bp’lik tek bant gözlenir.

3.7.12. Human Foamy Virüs *Bell* Dizisi Varlığının Araştırılmasında Kullanılan PCR Yöntemi

Bu amaçla kullanılan primerler Tablo13’te, PCR reaksiyon karışımı içeriği Tablo 14’de ve PCR programı Tablo 15’te verilmektedir.

Tablo 13. Kullanılan primer dizileri

Forward: 5'- CAC ACC AGA GGA AAT GAG -3'

Revers: 5'- CCA ACA ATT CCT CTG AGG -3'

Tablo 14. PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Karışımı	Miktar (µl)	Son Konsantrasyon
PCR tamponu (10 X)	2.5	1.0X PCR
MgCl ₂ (25mM)	2.0	2.0 mM
Primer F (10 pmol/µl)	0.40	4 pmol
Primer R (10pmol/µl)	0.40	4 pmol
dNTP'ler (10 mM)	0.50	0.2 mM
Genomik DNA (50 ng/ µl)	5	
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.4	2 U
Steril bidistile su	13.8 µl	
Toplam Hacim	25 µl	

Tablo 15. PCR programı

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	5 dk.	1
Denatürasyon	94	1 dk.	
Primer bağlanması	63	30 sn.	40
Zincir uzaması	72	1 dk.	
Son uzama	72	10 dk.	1

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde ayrıştırılarak görüntülendi ve 255 bp'lik ürün varlığı gözlemlendi.

3.8. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 15,0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Çalışma grupları ve incelenen genotipler arasındaki ilişki, tanımlayıcı istatistiksel testlerle değerlendirildi. Veri tabanından seçilerek, çapraz tabloya (crosstabs) aktarılan değişkenler, X^2 testleri kullanılarak incelendi ve $p<0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Risk oranını belirten, OR hesaplamalarında %95'lik CI (güvenlik aralığı) uygulandı.



4. BULGULAR

Çalışma ve kontrol grupları Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi kliniklerinden MEFV gen mutasyon analizi için Tıbbi Biyoloji Anabilim dalına sevk edilen ve yaygın görülen 12 MEFV geni mutasyonu açısından taranmış hastalardan oluşmaktadır. Bu hastalar arasında, aralarında akraba ilişkisi olmayan, Tel-Hashomer kriterlerine göre kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan 223 FMF hasta grubu ve yine aynı kriterlere göre kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan 209 kontrol grubu oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen bütün bireylere bilgilendirilmiş gönüllü onam formları imzalatıldıktan sonra FMF'e özgü klinik semptomları içine alan yaş, cinsiyet, ilk semptom yaşı, atak sıklığı, ateş, karın ağrısı, eklem ağrısı, eritem, göğüs ağrısı, amiloidoz, kolşisin kullanımına alınan yanıt ile ailede FMF hastalığı varlığı gibi birçok soru soruldu (Bütün bu bilgileri içeren veri tablosu Ek 3'te verilmektedir). Bu veriler doğrultusunda hastalar Tel-Hashomer kriterlerine göre incelendi ve kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan hastalar ile kesin tanı aldığı halde mutasyon taşımayan bireyler *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonu, *CIAS1* geni L110P mutasyonu, VEGF 936 C/T polimorfizmi değerlendirildi. Tablo 16'da Tel-Hashomer kriterlerine göre kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan hastaların genotipleri verilmiştir.

Tablo 16. Kesin tanı alan ve *MEFV* gen mutasyonu taşıyan FMF hasta grubuna ait genotip sonuçları

Genetik tanı	Kişi sayısı (N)	Oran (%)
M694V/E148Q	16 *	7,2
M680I (G/C)/V726A	16 *	7,2
E148Q/P369S	4	1,8
M680I(G/C)/M680I (G/C)	20	9,0
M680I (G/C)/M694V	48 *	21,5
M694V/M694V	77 ***	34,5
M694V/V726A	16	7,2
E148Q /V726A	2	0,9
E148Q / M680I (G/C)	3	1,3
F479L/ V726A	2	0,9
E148Q /M694I	2	0,9
M694V/A744S	1	0,4
M680I (G/C)/R761H	2	0,9
E148Q/R761H	1	0,4
M694V/E148Q/P369S	1	0,4
M694V/R761H	4	1,8
M680I (G/C)/ M680I (G/A)	2	0,9
E148Q/ E148Q	2	0,9
M694I/M694I	1	0,4
F479L/F479L	1	0,4
M694V/P369S	1	0,4
M680I (G/A)/M694V	1	0,4
Toplam	223	99,7

* Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastalarından R92Q mutasyonuna sahip 6 taşıyıcı bireyden biri M694V/E148Q genotipinde, biri M680I (G/C)/V726A, biri M680I (G/C)/M694V ve üç birey de M694V/M694V genotipindedir.

4.1. *TNFRSF1A* Geni R92Q Mutasyonu Genotip Oranları

Çalışmada 223 FMF hastası ve 209 (4 bireyin DNA'sı PCR ile çoğaltılmadığından kontrol grubu 205 bireyden oluşturuldu) kontrolden elde edilen DNA örnekleri *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonu açısından genotiplendirildi. Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları ile kesin tanı alan fakat taranan *MEFV* gen mutasyonlarından (E148Q, P369S, F479L, M680IG/C, M680IG/A, I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S ve R761H) hiçbirini taşımayan, fakat klinik olarak FMF özelliği gösteren kontrol grupları arasında genotip ve alel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Bulgularımıza göre, kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan 223 hastanın 217'si (%97,3) RR, 6'sı (%2,7) RQ genotipinde; kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan 205 kontrol grubunun 197'si (%96,1) RR ve 8'inin (%3,9) RQ genotipinde

olduğu belirlendi. QQ genotipine her iki grupta da rastlanılmadığı için istatistiksel analizde değerlendirmeye alınmadı (Tablo 17). FMF hastalarında *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonu genotip frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki grubun sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($\chi^2=0,50$; $p=0,481$).

FMF hastaları ve kontrol grubu alel frekansları karşılaştırıldığında ise R ve Q alel frekanslarının bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği bulundu. R aleli FMF hastalarında %98,7 oranında gözlenirken kontrol grubunda %98,0 olarak bulundu. Q aleli görülme sıklığı ise FMF hastalarında % 1,3 iken kontrol grubunda % 2,0'dir. Q aleli, kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastalarında mutasyon taşıyan FMF hastalarına göre daha yüksek oranda bulunmasına rağmen iki değer arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($\chi^2=0,49$; $p=0,485$).

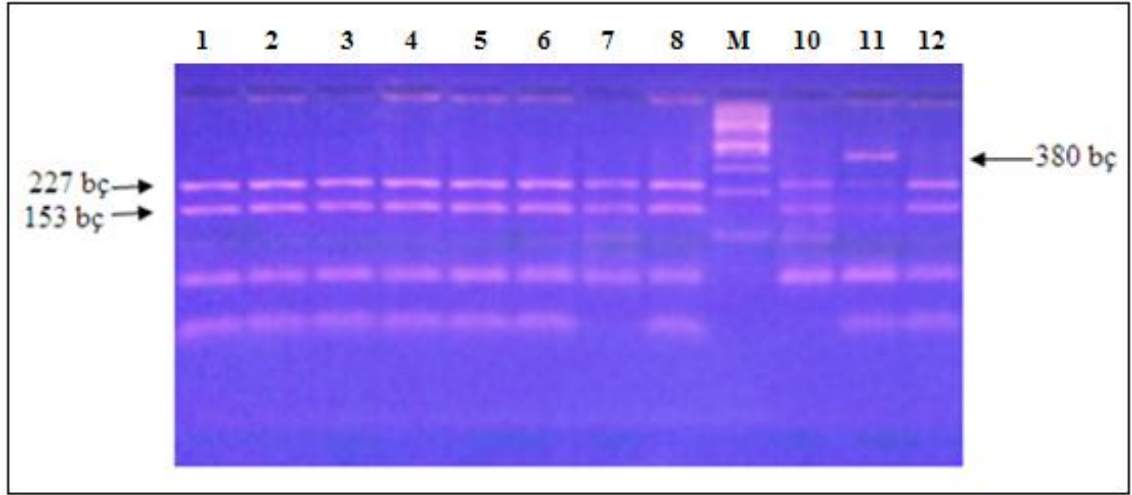
R92Q mutasyonu taşıyan her iki gruba ait bireylerin gösterdiği temel klinik özellikler Tablo 18'de gösterildi. Ateş ve ateşe eşlik eden karın ağrısı bütün bireylerde hemen hemen aynı oranda gözlenirken FMF'in en ciddi klinik semptomu olan amiloidoz bireylerin hiçbirinde gözlenmedi.

Tablo 17. Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları ile kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan kontrol grubu arasında R92Q mutasyonu genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması

<i>TNFRSF1A</i> geni R92Q mutasyonu	Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları (n=223)	Kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastaları (n=205)	χ^2	p	OR (%95 CI)
<u>Genotip</u>					
RR	217 (%97,3)	197(%96,1)			
RQ	6 (%2,7)	8 (%3,9)	0,50	0,481	1,47(0,45-4,86)
QQ	0	0			
<u>Alel</u>					
R	440 (%98,7)	402(%98,0)			
Q	6 (%1,3)	8 (%2)	0,49	0,485	1,46 (0,46-4,78)

Tablo 18. RQ genotipli *MEFV* mutasyonu taşıyan hastalar ile mutasyon taşımayan bireylerde klinik özellikler

	RQ genotipli <i>MEFV</i> mutasyonu taşıyan hastalar (n=6)	RQ genotipli <i>MEFV</i> mutasyonu taşımayan hastalar (n=8)
Klinik özellikler		
Ateş	6	8
Karın ağrısı	6	8
Göğüs ağrısı	4	2
Amiloidoz	0	0
Kolşisine yanıt	5	7
Eklem ağrısı	4	7
Erizipel benzeri eritem	2	2
Hastalığın aileselliği	2	2



Şekil 15. *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonu için %3'lük agaroz jel görüntüsü

Birinci, 2.,3.,4.,5.,6.,7.,8.,10.ve 12. kuyularda RR genotipi 11. kuyuda ise RQ genotipli örnekler gözlenmektedir. 9. kuyu 100 baz çiftlik (bç) DNA Ladder Marker'i temsil etmektedir (Şekil 15).

4.2. VEGF Geni 936 C/T Polimorfizmi Genotip Oranları

Çalışmada 223 FMF hastası ve 209 kontrol grubundan elde edilen DNA örnekleri *VEGF* 936 C/T polimorfizmi açısından genotiplendirildi. FMF hastaları ve *MEFV* gen mutasyonu taşımayan klinik olarak FMF özelliği gösteren kontrol grupları genotip ve alel frekansları açısından değerlendirildiğinde fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 19).

Tablo 19. FMF hastası ve kontrol grubu arasında *VEGF* 936C/T polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması

VEGF geni 936C/T polimorfizmi	Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları (n=223)	Kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastaları (n=209)	χ^2	p	OR (%95 CI)
Genotip					
CC	152 (%68,2)	166 (%79,4)	7,06	0,03*	
CT	60 (%26,9)	36 (%17,2)			
TT	11 (%4,9)	7 (%3,3)			
Alel					
C	364 (%81,61)	368 (%88,03)	6,39	0,011*	0,60 (0,40-0,90)
T	82 (%18,38)	50 (%11,96)			

*P <0,05 Fark istatistiksel olarak anlamlı

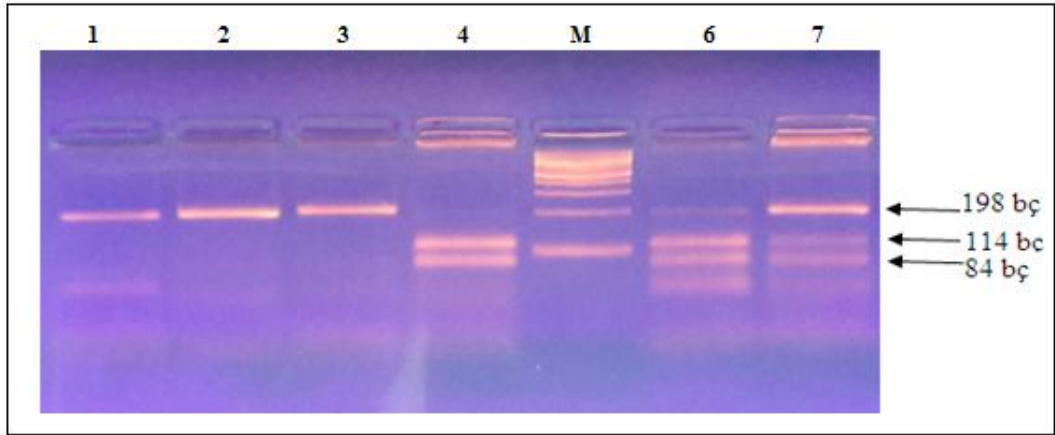
Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulgulara göre kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan 223 hastanın 152'sinin (%68,2) CC, 60'ının (%26,9) CT ve 11'inin (%4,9) TT genotipinde; kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan 209 kontrol grubunun 166'sının (%79,4) CC, 36'sının (%17,2) CT ve 7'sinin (%3,3) TT genotipinde olduğu belirlendi. FMF hastalarında *VEGF* geni 936 C/T polimorfizminin genotip frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki grubun sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($\chi^2=7,059$; $p=0,03$).

Tablo 19'da gösterildiği gibi, CC genotipinin mutasyon taşıyan FMF hastalarında mutasyon taşımayan kontrollere göre daha düşük oranda olduğu gözlemlendi ($p=0,022$). *VEGF* geninin 936 CT genotipi frekansı da diğer genotiplere oranla FMF

hastalarında (%26,9) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%17,2) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulundu ($p=0,015$). TT genotip sıklığı ise kontrol grubuna (%3,3) göre FMF olan hastalarda daha yüksek oranda (%4,9) bulundu. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,41$).

İki grubun CC ve CT genotip frekansları karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p=0,016$)

FMF hastaları ve kontrol grubunda alel frekansları karşılaştırıldığında ise C ve T alel frekanslarının iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi. C aleli FMF hastalarında %81,61 oranında gözlenirken kontrol grubunda %88,03 olarak bulundu. T aleli ise FMF hastalarında %18,38 iken kontrol grubunda %11,96 sıklıkta olduğu saptandı. T aleli FMF hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($\chi^2=6,39$; $p=0,011$)



Şekil

16. VEGF geni 936 C/T polimorfizmi için %3'lük agaroz jel görüntüsü

VEGF geni 936 C/T polimorfizmi için agaroz jel görüntüsü Şekil 16'da verilmiştir. Birinci, 2. ve 3. kuyularda CC genotipine sahip bireylere ait örnekler, 4. ve 6. kuyularda TT genotipli örnekler ve 7. kuyuda ise CT genotipli örnekler gözlenmektedir. 5. kuyu 100 bp'lik DNA Ladder Marker'i temsil etmektedir.

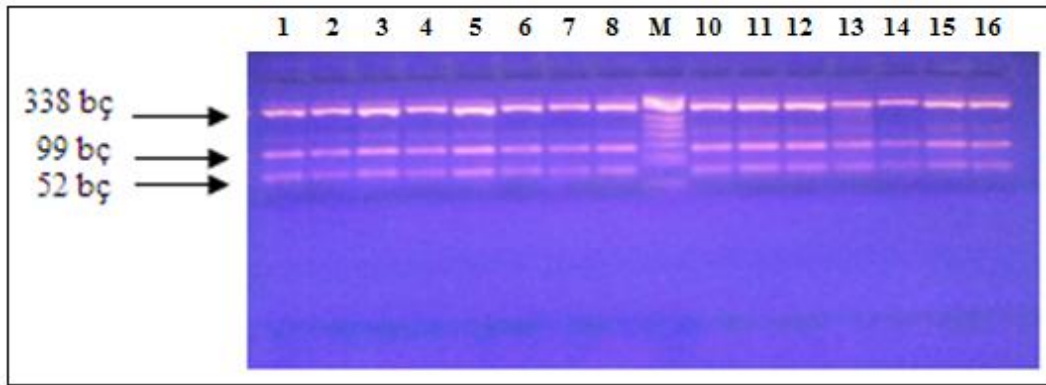
4.3. *CIAS1* Geni L307P Mutasyonu Genotip Oranları

223 bireyden oluşan çalışma grubunda ve 209 (1 bireyin DNA'sı PCR ile çoğaltılmadığından kontrol grubu 208 bireyden oluşturuldu) bireyden oluşan kontrol grubunda, *CIAS1* geninde tanımlanmış L307P mutasyonu PCR-RFLP yöntemiyle

incelendi. Sonuç olarak, çalışılan bireylerin hiçbirinde L307P mutasyonuna rastlanmadığı için istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı (Tablo 20).

Tablo 20. Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları ile kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan kontrol grubu arasında L307P mutasyonu genotip ve alel oranları

<i>CIAS1</i> geni L307P mutasyonu	Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları (n=223)	Kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastaları (n=208)
<u>Genotip</u>		
LL	223(%100)	208 (%100)
LP	0	0
PP	0	0
<u>Alel</u>		
L	446 (%100)	416 (%100)
P	0	0



Şekil 17. L307P mutasyonunun %3 agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şekil 17’de uygun RFLP enzimi ile gerçekleşen iki kesim sonucu oluşan 52, 99 ve 338 bç’lik bantların ifade ettiği mutasyon taşımayan yabancı tip örnekler gözlenmektedir. Dokuzuncu kuyuda ise VC pUC19/MspI DNA belirteci bulunmaktadır.

4.4. İnsan Köpüksü Virüs (Human Foamy Virus) Varlığı

Çalışmada kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan 223 (1 bireyin DNA'sı PCR ile çoğaltılmadığından hasta grubu 222 bireyden oluşturuldu) FMF hastası ve kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan 209 (4 bireyin DNA'sı PCR ile çoğaltılmadığından 205 birey dahil edildi) semptomatik FMF hastası insan köpüksü virüs varlığı açısından incelendi. Bu çalışmanın devamında karşılaştırmanın daha anlamlı olması amacı ile Tel-Hashomer kriterlerine göre FMF tanısı almayan ve taranan 12 *MEFV* gen mutasyonundan hiçbirini taşımayan sağlıklı 200 kontrol grubunda daha virüs varlığı araştırıldı. İki farklı gruptaki FMF hastası ve kontrol grubu arasında insan köpüksü virüs varlığı açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 21).

Tablo 21. FMF hastası ve kontrol grubu arasında insan köpüksü virüs varlığının karşılaştırılması

İnsan Köpüksü Virüs (HFV) varlığı	Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları (n=222)	Kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastaları (n=205)	FMF tanısı almayan ve mutasyon taşımayan kontrol grubu (n= 200)	χ^2	p
HFV (+)	43 (%19,02)	33 (%16,09)	15 (%7,5)	12,56	0,002*
HFV (-)	179 (%80,63)	172 (%83,90)	185 (%92,5)		

*p<0,05 Fark istatistiksel olarak anlamlı

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan 222 hastanın 43 (%19,02)'ü HFV (+) iken 183 (%80,97)'ü HFV (-) olarak bulundu; kesin tanı alan ve mutasyon taşımayan 205 semptomatik FMF hastasının ise 33 (%16,09)'ünde HFV varlığı tespit edilirken 172 (%83,90)'sinde virüs varlığı saptanmadı. Klinik özellik göstermeyen ve mutasyon taşımayan 200 sağlıklı kontrollerin ise 15 (%7,5)'i HFV varlığı açısından (+) iken 185 (%92,5)'i (-) olarak bulundu.

İncelenen üç grup insan köpüksü virüs varlığı açısından değerlendirildiğinde fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($\chi^2=12,56$; p=0,002).

Tablo 22’de görüldüğü gibi çalışılan hasta gruplarından *MEFV* gen mutasyonu taşıyan grup ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı bulundu ($\chi^2=12,503$; $p=0,0001$). İnsan köpüksü virüsü, mutasyon taşıyan hasta gruplarının %19,02’sinde gözlenirken sağlıklı kontroller de %7,5 oranında gözlendi. Klinik olarak FMF özelliği gösteren fakat *MEFV* gen mutasyonu taşımayan semptomatik hastalar ile sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında da aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($\chi^2=7,163$; $p=0,007$). Semptomatik FMF hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha yüksek frekansta HFV varlığı saptandı (Tablo 23).

Tablo 22. *MEFV* gen mutasyonu taşıyan FMF hastası ve kontrol grubu arasında insan köpüksü virüs varlığının karşılaştırılması

İnsan Köpüksü Virüs (HFV) varlığı	Kesin tanı alan ve çift mutasyon taşıyan FMF hastaları (n=222)	FMF tanısı almayan ve mutasyon taşımayan kontrol grubu (n= 200)	χ^2	p	OR (%95 CI)
HFV (+)	43 (%19,02)	15 (%7,5)	12,50	0,000*	2,96 (1,53-5,80)
HFV (-)	179 (%80,63)	185 (%92,5)			

* $p<0,05$ Fark istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 23. *MEFV* gen mutasyonu taşımayan FMF hastası ve kontrol grubu arasında insan köpüksü virüs varlığının karşılaştırılması

İnsan Köpüksü Virüs (HFV) varlığı	Kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan FMF hastaları (n=205)	FMF tanısı almayan ve mutasyon taşımayan kontrol grubu (n= 200)	χ^2	p	OR (%95 CI)
HFV (+)	33 (%16,09)	15 (%7,5)	7,163	,007*	2,37 (1,19-4,74)
HFV (-)	172 (%83,90)	185 (%92,5)			

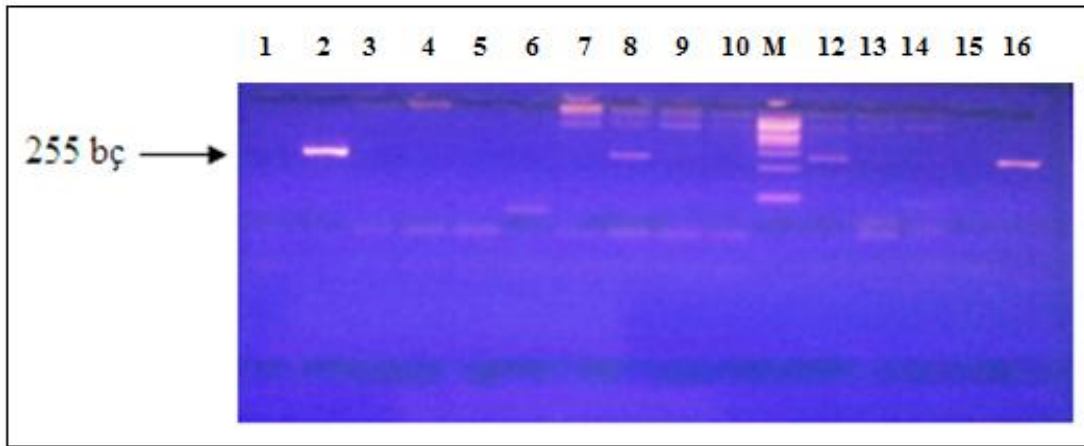
* $p<0,05$ Fark istatistiksel olarak anlamlı

Genel olarak Tel-Hashomer kriterlerine göre kesin tanı alan çalışma grubu ile sağlıklı kontroller HFV varlığı açısından karşılaştırıldığında, Tablo 24’de görüldüğü gibi tanı alan FMF hastalarında HFV daha yüksek oranda gözlemlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($\chi^2=11,64$; $p=0,001$).

Tablo 24. Kesin tanı alan FMF hastaları ve kontrol grubu arasında insan köpüksü virüs varlığının karşılaştırılması

İnsan Köpüksü Virüs (HFV) varlığı	Kesin tanı alan FMF hastaları (n=427)	FMF tanısı almayan ve mutasyon taşımayan kontrol grubu (n= 200)	χ^2	p	OR (%95 CI)
HFV (+)	76 (%17,8)	15 (%7,5)	11,64	0,001*	2,67 (1,45-4,99)
HFV (-)	351 (%82,2)	185 (%92,5)			

* $p<0,05$ Fark istatistiksel olarak anlamlı



Şekil 18. 255 bp’lik insan köpüksü virüsü *bell* geni varlığının %4’lük agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şekil 18’de insan köpüksü virüsü *bell* geni varlığının agaroz jel elektroforez görüntüsü verilmiştir. Birinci kuyuda yer alan negatif kontrolde amplifikasyon görülmemektedir. İkinci ve 16. kuyularda insan köpüksü virüsü *bell* geninin

çoğaltıldığı 255 bç uzunluğundaki pozitif kontroller yer almaktadır. On birinci kuyu 100 bç'lik DNA Ladder Markerı temsil etmektedir. Sekizinci ve 12. kuyularda çalışılan örnekler de pozitif HFV varlığını göstermektedir. 3., 4., 5., 6., 7., 9., 10., 13., 14. ve 15. kuyularda amplifikasyonun olmadığı negatif HFV örnekleri gözlenmektedir. Çalışmada kullanılan pozitif kontrol DNA'sı Prof. Dr. Dirk Lindemann (Dresden Teknik Üniversitesi, Viroloji Enstitüsü, Almanya) tarafından hibe edilen ve HFV genomu içeren plazmid DNA'sıdır.



5. TARTIŞMA

Kalıtsal periyodik ateş sendromları nadir gözlenen, tetikleyici bir faktör olmadan veya minimal bir tetikleyici etken varlığında ortaya çıkan ve tekrarlayan ateş atakları ile karakterize bir grup hastalığı kapsamaktadır. Bu grubun en yaygın üyesi olan FMF, Türkiye’de de çok sık gözlenen otoinflamatuvar bir hastalıktır (Tunca ve ark., 2005; Cosan ve ark., 2013). Periyodik ateş sendromları, klinik olarak ayırıcı tanı sağlayacak özellikler göstermektedirler. Bununla beraber iki farklı periyodik ateş sendromu açısından mutasyon taşıyan vakalar da raporlanmıştır. Bu nedenle FMF dışındaki diğer periyodik ateş sendromlarında mevcut klinik özelliklerin oluşumunda etkili olabilmektedir.

Literatürde ilk olarak 2005 yılında tümör nekroz faktör reseptörü ilişkili periyodik sendrom (TRAPS) ile ilişkilendirilen ve *TNFRSF1A* geninde yanlış anlamlı mutasyon taşıyan Türk kökenli hastalar rapor edilmiştir (Dinc ve ark., 2005). Aynı şekilde 2007 yılında Akdeniz kökenli 20 yaşında FMF tanısı almış bir kadın olgunun daha sonra yapılan genetik analiz sonucunda ise *MEFV* geni M694V mutasyonu homozigot taşıyıcısı ve *TNFRSF1A* geni R92Q heterozigot taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (Granel ve ark., 2007). Bunun gibi hem *MEFV* hem de *TNFRSF1A* geninde mutasyon taşıyan Türk hastaların ve Avrupa kökenli olguların varlığı, FMF’i yaygın olduğu toplumlarda tanının netleştirilmesi için daha kapsamlı klinik ve genetik araştırmalar gerektirdiğini göstermiştir. FMF şüphesi olan hastalarda kesin tanının netleştirilebilmesi için TRAPS gibi diğer otoinflamatuvar hastalıkların da değerlendirilmesi önemlidir (Dinc ve ark., 2005).

Otoinflamatuvar hastalıklar başlangıç yaşı, süresi ve belirtileri gibi farklı özellikler göstermesine rağmen; ateş atakları, serozal zarların inflamasyonu, deri döküntüsü gibi yaygın gözlenen ortak özelliklere de sahiptir. Türk populasyonunda yapılan bir çalışmada otoinflamatuvar hastalıklar ile ilişkili klinik özellikler ve laboratuvar bulgularına sahip iki çocuk vaka incelenmiş ve *TNFRSF1A* geninde Y331X nonsense (durdurucu kodon mutasyonu) mutasyonu belirlenmiştir. Karın ve eklem ağrılarının eşlik etmediği tekrarlayan ateş atakları gözlenen bu iki vakadan birinin, aynı zamanda *MEFV* geni E148Q mutasyonu heterozigot taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (Kutukculer ve ark., 2010).

FMF'e neden olan *MEFV* gen mutasyonları, inflamazomun bozulmasına ve IL-1 β yanıtındaki artışa neden olur. Bu yolak FMF patogenezinde önemli bir mekanizmadır. Yüksek oranda *MEFV* gen mutasyonu taşıyıcısı olan toplumlarda, bu mutasyonların diğer inflamatuvar hastalıkların ciddi klinik özellikleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin ana nedeni olarak da IL-1 β aktivasyonundaki düzensizlik gösterilmiştir (Cosan ve ark., 2013).

Coşan ve arkadaşları 2013 yılında yayınladıkları çalışmalarında Türk kökenli olan ve tekrarlayan ateş atakları, eritematöz, deri döküntüsü, konjonktivit, miyalji ve artralji semptomları gözlenen 47 yaşında bir kadın olgu ve iki oğlunda *TNFRSF1A* geni C29R mutasyonu saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonucuna göre uzun süreli ve kendiliğinden gelişen ateş atakları, deri döküntüsü, miyalji ve artraljinin Türkiyede daha yaygın gözlenen FMF'in dışında TRAPS ile de ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir (Cosan ve ark., 2013).

TRAPS otozomal dominant olarak kalıtılan bir otoinflamatuvar hastalıktır. TRAPS, TNF- α reseptörünü kodlayan *TNFRSF1A* genindeki mutasyonlar sonucu oluşur (McDermott ve ark., 1999).

Stojanov ve arkadaşları, 1 yaşından itibaren 40⁰C'ye kadar ulaşan tekrarlayan ateş atakları ve ciddi karın ağrıları şikayeti olan ve zaman zaman artralji, ishal, spesifik olmayan deri döküntüleri, baş ağrısı ve faranjit ile karakterize ataklar geçiren 12 yaşında Çinli bir olgu tanımlamışlardır. *MEFV* geninde yapılan mutasyon taraması sonucu olguda heterozigot E148Q mutasyonu saptanmıştır. Aynı zamanda olguya *TNFRSF1A* geni için mutasyon taraması yapılmış ve heterozigot Y20D mutasyonu taşıdığı belirlenmiştir. E148Q mutasyonu homozigot veya heterozigot durumda genel olarak hastalık ile ilişkili olmamasına rağmen ikinci bir *MEFV* mutasyonu ile birlikte E148Q ağır bir fenotipe neden olabilir (Stojanov ve ark., 2004). Benzer olarak Hoffman ve arkadaşlarının tanımladıkları 7 yaşında Alman bir olguda *MVK* ve *TNFRSF1A* geni için yapılan mutasyon taraması sonucu, heterozigot *MVK* V377I mutasyonu ile heterozigot *TNFRSF1A* R92Q mutasyonu saptanmıştır (Hoffmann ve ark., 2005). Şimdiye kadar farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmaların sonuçları, periyodik ateş sendromlarında klinik tablonun oluşmasına neden olan mutasyonların tek bir gen ile sınırlandırılmayacağını göstermektedir.

Bu çalışmada FMF ve TRAPS semptomlarının benzerlik göstermesi nedeniyle, Tel-Hashomer kriterlerine göre FMF için kesin tanı aldığı halde, taranan on iki *MEFV* geni mutasyonlarından hiçbirini taşımayan hastalarda ve *MEFV* gen mutasyonu taşıyan hastalarda *TNFRSF1A* R92Q mutasyonunun görülme sıklığı incelenmiş ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

İlk olarak laboratuvarımıza başvuran FMF hastaları, Tel-Hashomer kriterlerine göre incelenmiş ve kesin tanı alan hastalar yaygın gözlenen 12 *MEFV* gen mutasyonu açısından değerlendirilmiştir. Taranan *MEFV* gen mutasyonlarından hiçbirini taşımayan hastaların varlığı ve FMF ile TRAPS arasındaki semptomlardaki benzerlik açıklanamayan FMF olgularının *TNFRSF1A* gen mutasyonlarını içerebileceğini düşündürmüştür. 2014 yılında yayınlanan bir makale bu düşüncüyü desteklemektedir. Yasumura ve ark.'ları 2014 yılında hem *TNFRSF1A* geni T50M mutasyonu hem de *MEFV* geni E84K ve P115R mutasyonu taşıyan iki yaşında bir kız hasta tanımlamışlardır (Yasumura ve ark., 2014).

FMF otozomal resesif olarak kalıtılır ve hastaların çoğunda 2 *MEFV* gen mutasyon taşıyıcılığı, klinik semptomların görülmesine neden olur. Ancak bazı araştırmacılar hastaların %25'inde tek *MEFV* gen mutasyonunun hastalığın ortaya çıkmasında muhtemelen yeterli olabileceğini göstermiştir (Yigit ve ark., 2008; Booty ve ark., 2009; Kone-Paut ve ark., 2009; Marek-Yagel ve ark., 2009b). Bununla beraber hiç mutasyon taşımayan hastalarda, mutasyona uğramış başka bir genin varlığı klinik semptomların oluşumunu açıklayabilir. Bu amaçla yaptığımız çalışmada incelenen 205 mutasyon taşımayan semptomsal FMF hastasının 8 (%3,9)'ünü *TNFRSF1A* R92Q için heterozigot bulduk. Bu oran mutasyon taşıyan hastalarda daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak bu farklılık anlamlı değildir (p=0,481).

Yagel ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada 92 FMF hastası ve 250 kontrol grubu arasında *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyon sıklığı incelenmiş ve FMF hastalarının %3.2'sinde, kontrol grubunun ise %6'sında R92Q mutasyon taşıyıcılığı belirlenmiştir. Çalışmada, tek *MEFV* mutasyonu taşıyan kesin tanı 20 FMF hastası arasında R92Q için iki heterozigot birey, çift *MEFV* mutasyonu taşıyan 13 FMF hastasında ise bir heterozigot birey bulunmuştur (Marek-Yagel ve ark., 2010).

2009 yılında Booty ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada 14 FMF hastasının 1'inin R92Q mutasyon taşıyıcısı olduğunu bulunmuştur (Booty ve ark.,

2009). Aynı yıl yayınlanan başka bir çalışmada *MEFV* geninde tek mutasyon taşıyan 21 FMF hastasının birinde R92Q mutasyonu bulunduğu rapor edilmiştir (Kone-Paut ve ark., 2009).

Bu üç çalışmanın sonuçları bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir. Dört çalışmada da hasta ve kontrol grubu taşıyıcılık oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. AA tipi amiloidoz, FMF ve son zamanlarda tanımlanmış TRAPS ve MWS gibi kalıtsal hastalıkların ana komplikasyonudur (Grateau ve ark., 1999). Bu hastalıklar visceral, sinovyal veya deri iltihabı ile tekrarlayan ateş atakları ile karakterize inflamatuvar yollarda meydana gelen aksaklıklar sonucu oluşan hastalıklardır. FMF’de amiloidoz genellikle inflamatuvar atakların başlangıcından yıllar sonra ortaya çıksa da, amiloidoz gelişiminden önce başka klinik belirtilerle kendini gösterebilir (Dode ve ark., 2002).

Yapılan iki farklı çalışmada R92Q mutasyon varlığının amiloidoz gelişiminde olası bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (Dode ve ark., 2002; Aganna ve ark., 2004). Ancak bizim sonuçlarımıza göre R92Q mutasyon taşıyıcısı olan 14 bireyin hiçbirinde amiloidoz gözlenmemiştir. Aynı şekilde Yagel ve ark.’ları tarafından yapılan çalışmanın sonuçları da R92Q mutasyonunun amiloidoz ile ilişkili olmadığını göstermektedir (Marek-Yagel ve ark., 2010). Ortak biyokimyasal yollar göstermelerine rağmen hasta ve kontrollerde R92Q’nun benzer frekanslarda gözlenmesi *TNFRSF1A* ve *MEFV* geni arasında etkileşim olmadığını veya minimal bir etkileşim olabileceğini düşündürmektedir (Marek-Yagel ve ark., 2010).

Kalıtsal otoinflamatuvar hastalıkların tanısında genetik analizin önemi hakkında 2006 yılında, kesin tanı almamış otoinflamatuvar sendromlu 60 hasta, TRAPS, FMF yada HIDS tanısı alan 87 hasta ve 50 kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada otoinflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiş *MEFV*, *TNFRSF1A*, *MVK* ve *CIAS1* genleri moleküler olarak incelenmiş. Yapılan çalışmada genetik analiz ile hastalığa klinik olarak tanı konması arasında anlamlı düzeyde fark bulunamamıştır. Sonuç olarak otoinflamatuvar sendromun tanısı için fiziksel muayene, etnik köken, aile öyküsü, ilaç kullanımı, ayrıntılı tıbbi öykü de dahil olmak üzere öncelikle klinik muayene ile hastalık şüphesinin bir veya iki hastalığa kadar indirgenmesini ve sonrasında şüphe duyulan hastalıklara yönelik genetik tanının yapılmasını önermişlerdir (Simon ve ark., 2006).

TNFRSF1A dışında CIASI gibi diğer otoinflamatuvar genlere ait mutasyonlarında FMF hastalarında gözleendiğini bildiren raporlar sunulmuştur. FMF benzeri septomlar gösteren Ermeni kökenli bir hastada *MEFV* ve *PYPAF1* (*CIASI*) geni için genetik tarama yapılmış ve *MEFV* geninde mutasyon belirlenemezken *PYPAF1* geninde nonsense mutasyon belirlenmiştir. Yazarlar *MEFV* geninde mutasyon taşımayan FMF benzeri fenotip gösteren hastalarda *PYPAF1* geninin de çalışılmasını önermişlerdir (Jéru ve ark., 2006).

Bizim çalışmamızda *MEFV* gen mutasyonu taşıyan ve taşımayan her iki grupta da *CIASI* L307P mutasyonu için tarama yapılmış fakat hiçbir hasta grubunda mutasyon saptanmamıştır. Bu sonuç L307P mutasyonunun Türk toplumunda sık rastlanan ve penetransı yüksek olan mutasyonlar arasında sayılamayacağı varsayımını destekler niteliktedir.

Yapılan bir başka çalışmada ise kolşisine yanıtızlık ve AA tipi amiloidoz ile ilişkili ciddi dominant geçişli periyodik inflamatuvar bozukluğu olan üç kuşaklı İspanyol bir ailede beş aile üyesi tanımlanmıştır. FMF hastalığının kesin klinik tanısı Tel-Hashomer kriterlerine göre yapılmış olan bu bireylerde, genetik analizler ile *TNFRSF1A* ve *CIASI* genindeki mutasyonlar ekarte edilmiş ve tüm hastaların *MEFV* H478Y varyantı açısından heterozigot oldukları saptanmıştır. Sonuçta FMF otozomal resesif kalıtım gösteren otoinflamatuvar bir hastalık olmasına rağmen bu hastalarda gözlenen dominant geçişli, şiddetli, periyodik otoinflamatuvar hastalık fenotipinin oluşumunda H478Y varyantının etkili olabileceği ifade edilmiştir (Aldea ve ark., 2004).

Yapılan çalışmalar ve bizim elde ettiğimiz sonuçlar FMF'in tek gen kalıtımı göstermesine rağmen klinik tablonun oluşumunda *MEFV* gen mutasyonlarının dışında başka etmenlerin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

VEGF, endotelyal hücreler üzerinde etkili bir faktördür. Oksijen ve besinden yoksun bırakılmış kültürdeki endotelyal proliferatif olmayan hücrelerin çoğalması, ağ formasyonu oluşturması ve dallanmalarını uyardığı gösterilmiştir. VEGF'nin bol miktarda üretimi ile gerçekleşen anjiyogenez sonucu oluşan neovaskülarizasyon kronik inflamasyonun gelişimde önemlidir (Nam ve ark., 2005). Çeşitli çalışmalar *VEGF* genindeki polimorfizmlerin ankilozan spondilit ve romatoid artrit gibi bazı romatizmal hastalıklara yatkınlık gösterdiğini ortaya koymuştur (Han ve ark., 2004; Nam ve ark.,

2005; Seo ve ark., 2005). Nam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada seçilen *VEGF* gen polimorfizmlerinin VEGF üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Nam ve ark., 2005).

Yapılan bir çalışmada 3'UTR bölgesinde çalışılan 3 mutasyondan biri olan 936. pozisyonundaki C→T değişiminin VEGF plazma seviyesi ile önemli düzeyde ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada 936 C/T polimorfizminin sağlıklı erkeklerde önemli ölçüde daha düşük VEGF plazma seviyeleri ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bu mutasyonun anjiyogenez ile ilişkili hastalıklar için önemli bir genetik belirteç olabileceği ifade edilmiştir (Renner ve ark., 2000).

Güneşar ve ark.'larının 2007 yılında yaptıkları çalışmada, VEGF geni 936 C/T polimorfizminin genotip ve alel frekansları açısından FMF'li hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bununla beraber bu genin 936TT genotipinin sağlıklı kontrollere göre FMF hastalarında daha yüksek oranda bulunduğunu fakat farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ifade etmişlerdir (Gunesacar ve ark., 2008). Araştırmacıların TT genotipiyle ilgili bu sonucu bizim sonucumuz ile benzerlik göstermektedir.

Yaptığımız çalışma, VEGF geni 936 C/T fonksiyonel polimorfizminin, FMF hastalığının temel fenotipik özellikleri ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için yapılmıştır. Çalışmamızda hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında genotip ve alel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0,03$; $p=0,011$). Sonuçlarımız CC genotipinin FMF hastalarında kontrollere göre daha düşük oranda; CT genotipinin ise anlamlı derecede daha yüksek oranda olduğunu göstermiştir. VEGF geni 936 TT genotipi ise hastalarda kontrollere göre daha yüksek oranda olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Alel frekanslarında da C alelinin FMF hastalarında kontrollere göre daha düşük oranda, T alelinin ise daha yüksek oranda gözlendiği belirlenmiştir ($p=0,011$).

Han ve ark.'ları tarafından 2004 yılında romatoid artritli (RA) hastalar ile yapılan bir çalışmada VEGF'nin düşük üretimi ile ilişkili olan 936T aleli frekansının kontroller ile karşılaştırılması sonucu bu alelin RA'lı hastalarda önemli oranda yüksek sıklıkta olduğu bulunmuştur ($P=0,002$). Bu çalışmanın sonunda *VEGF* geninin RA gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Araştırmacılar aynı zamanda genin 5' yönünde -2578, -1154 ve -634 pozisyonlarındaki polimorfizmleri de incelemişler ve sonuçta bu polimorfizmlerin RA gelişimi ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir (Han ve

ark., 2004). Bizim çalışmaya dahil ettiğimiz FMF hastalarında da 936T aleli frekansı kontrollere göre daha yüksek oranda gözlenmiştir.

2013 yılında Çinli RA'lı hastalar ile yapılan bir diğer çalışmada ise 3 SNP noktası (-2578C/A, -634G/C ve 936C/T) incelenmiş ve bu polimorfizmlerin RA riski ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir (Zhang ve ark., 2013). Bu çalışmanın sonuçları Han ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarından farklı olarak 936 C/T polimorfizminin RA ile ilişkili olmadığını göstermiştir.

Başka bir çalışma otoinflamatuvar bir hastalık olan Behçet hastaları (BD) ile yapılmıştır. Seçilen dört polimorfizmin (-2578, -1154, -634 ve 936) genotip ve alel frekansları BD'li hasta ve kontrol grubu arasında incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bununla beraber 936 CC genotipi üveitli BD hastalarında (%73) üveitsiz BD hastalarına (%74) göre daha düşük oranda bulunmuştur. TT genotipi ise üveitli BD hastalarında (%7,9) üveitsiz hastalara (%1,6) göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber daha yüksek oranda gözlenmiştir (p=0,080) (Nam ve ark., 2005). Nam ve ark.'ları tarafından yapılan bu çalışma sonuçları da bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Sonuçlarımız, *VEGF* geni 936 C/T polimorfizminin FMF'in fenotipik özelliklerinin ortaya çıkmasında etkili olabileceğini göstermektedir. Bu etkinin *VEGF*'nin lökosit kemotaksisini uarması yoluyla olabileceği düşünülebilir. Bu da bu araştırmada taranan ve *MEFV* geninde yaygın olarak görülen 12 mutasyondan hiç birini taşımayan kontrol grubunda FMF semptomlarının görülmesine neden olmuş olabilir.

FMF kalıtsal bir hastalık olarak kabul edilse de net bir genetik geçmişi olmayan birçok hasta vardır. Bu nedenle bu hastalığın oluşumunda genetik etmenlerin dışında yeni patolojik faktörlerin de etkili olabileceği düşündürülen çalışmalar bulunmaktadır.

Geçen yüzyılda insanlarda ortaya çıkan viral patojenlerin çoğunun çeşitli hayvan türlerinden köken aldığı düşünülmektedir (Wolfe ve ark., 2007). 1954 yılında Rhesus maymununun böbrek hücrelerinden ilk köpüksü virüsün (foamy virus, FV) tanımlanmasından (Enders ve Peebles, 1954) sonra köpüksü virüsler, çok sayıda, 'non-human primates', NHP (İnsan olmayan/ insan dışındaki primatlar) türleri de dahil olmak üzere birçok hayvan türlerinden izole edilmiştir. Kendiliğinden enfekte olmuş hayvanlarda FV'lerin prevalansı genellikle yüksektir fakat bu sıklık türlere göre

değişkenlik gösterir (Locatelli ve Peeters, 2012). Bununla beraber, Simian virüsler ile oluşan insan enfeksiyonlarının giderek artması önemli bir halk sağlığı sorununu göstermektedir. NHP'ler, insanı enfekte eden bir virüsün olası kaynağı olarak kabul edilir ve bu durum insan popülasyonu için önemli bir tehdit unsuru oluşturur (Locatelli ve Peeters, 2012).

İnsan köpüksü virüsü (HFV), ilk olarak 1971 yılında nazofarenjal karsinomlu Kenyalı bir hastanın hücre kültüründen izole edilen köpüksü virus (FV) üyesidir (Achong ve ark., 1971). Filogenetik çalışmalar bu virüsün Doğu Afrika şempanzelerinin bir alttüründen köken aldığını ortaya koymuştur. Bu suş şimdi prototip köpüksü virüs (PFV) olarak kabul edilmektedir ancak kökeni tam olarak belirlenmiş değildir (Murray ve Linial, 2006).

Prototip köpüksü virüsün transaktivatörü olan Bel1, PFV'nin replikasyonunda önemli rol oynar. Önceki çalışmalar Bel1'in bir nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) taşıdığını göstermiştir, fakat amino asit dizisi bilinmemektedir ve buna karşılık gelen *importin*'ler¹ tespit edilememiştir (Ma ve ark., 2014).

HFV, kompleks retrovirüslerden olup retrovirüs enfeksiyonları otoimmün romatizmal hastalıklar için olası etiyolojik faktörlerden biri olarak öne sürülmektedir. Yapılan bir çalışmada Myastenia Gravis'li dört hastanın timus örneklerinden PCR ile HFV proviral genom varlığı araştırılmış ve sonuçta da bütün örneklerde gag ve bel2 dizilerini temsil eden DNA fragmentinin varlığı gösterilmiştir. Bu bulgular otoimmünite de HFV'nin potansiyel rolünü göstermektedir. Fakat, daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Liu ve ark., 1996).

İnsan hastalıkları ve virüs arasındaki ilişki ile ilgili olarak sunulmuş farklı raporlar bulunmaktadır. Bunlardan bir diğeri Alman kohortunu kapsayan bir çalışmadır. Çalışmada 41 Graves hastasının periferik kan lökositlerinde FV DNA'sı tespit edilememiştir (Schweizer ve ark., 1994). Bununla beraber HFV karşı antikor, De-Quervain tiroidi, nazofarenks karsinoma ve Amiyotrofik Lateral Sklerosis (Westarp ve ark., 1993) hastalarında tespit edilmiştir. Afrika ve diğer ülkelerden gelen ve Multipl skleroz, Graves hastalığı ve kronik yorgunluk sendromu gibi farklı hastalıklara sahip

¹ importin, nükleer lokalizasyon dizisi olarak adlandırılan spesifik tanıma dizilerine bağlanarak çekirdek içine protein moleküllerinin taşınmasını sağlayan transport proteinlerinin bir çeşididir.

hastalardan toplanan serum örnekleri insan spuma retrovirüsüne (HSRV) karşı antikorlar için test edilmiştir. Seropozitif hastaların çoğunluğu, ilk bildirilen sonuçlarla uyumlu olarak Kenya ve Tanzania'dan nazofarenks kanseri hastalarda tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçları, dünya çapında göreceli olarak düşük yaygınlıkta da olsa çeşitli hastalığa sahip insanlarda spumavirus enfeksiyonları olduğunu göstermiştir (Mahnke ve ark., 1992).

Ayrıca spuma retrovirüs enfeksiyon belirteçleri için yapılan bir araştırmada 29 Graves hastası ve 23 kontrol grubu çalışılmış ve periferik lenfositlerde bu virüsün pozitif bulguları, PCR ile gösterilmiştir. Araştırmacılar sonuçta Graves hastalığı ve HSRV ilişkili enfeksiyon belirteçlerinin varlığı arasında güçlü bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (Lagaye ve ark., 1992).

Kompleks retrovirüslerden olan FV'ler birçok türde yaygın olarak bulunmaktadır ve 40 yıl önce keşfedilmelerine rağmen en az tanımlanmış retrovirüslerdir. 2001 yılında köpüksü virüs epidemiyolojisi ve enfeksiyonunun tarihsel perspektifi üzerine yayınlanan bir araştırmada FV'lerden kaynaklanan doğal konak enfeksiyonunun patolojik olarak herhangi bir kanıt olmadan yaşam boyu kalıcı enfeksiyonlara neden olduğu ileri sürülmüştür. Yine bu araştırmanın sonuçlarına göre yapılan çalışmaların çoğunun FV enfeksiyonlarının bazı populasyonlarda yaygın olduğunu ve belirli hastalıklar ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Meiering ve Linial, 2001).

İnsan köpüksü virüsü veya spuma retrovirüsler (HSRV) gag, pol ve env olmak üzere üç retroviral gen içerir. Buna ek olarak en az üç bel genine sahiptirler. HSRV bel-1 proteini LTR-yönlendirmeli/kontrollü transkripsiyon için transkripsiyonel trans-aktivatör olarak tanımlanmıştır (Löchelt ve ark., 1993). Yapılan bir araştırma sonuçları HSRV özgü bel-1 ve bet gen delesyonlarının pHSRV 13 klonunun enfektivitesini ortadan kaldırdığını göstermiştir. Bu iki çalışmanın sonuçları bel-1 geninin viral replikasyon ve gen ekspresyonu için gerekli olduğunu göstermiştir (Löchelt ve ark., 1991).

1991 yılında Bothe ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada LTR'nin transkripsiyonel kontrolündeki HFV bel-1 bölgesini taşıyan transgenik farelerin merkezi sinir sistemi, düz ve çizgili kas dokularında transgen ifade edilmiştir ve bu hayvanlarda merkezi sinir sistemi ve çizgili kaslarda ilerleyici dejeneratif hastalık gelişmiştir.

Araştırmacılar, transgen ekspresyonunun yapısal hasar ve inflamatuvar reaksiyonlar ile yakından ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu sonuçlar, HFV'nin insanlarda patojenik sonuçlara yol açabileceğini düşündürmüştür (Bothe ve ark., 1991).

Bu bağlamda HFV'nin FMF oluşumundaki etkisini araştırdığımız çalışmamızda, HFV varlığını incelediğimiz *MEFV* gen mutasyonu taşıyan FMF hastaları, mutasyon taşımayan fakat semptomatik FMF hastaları ve kontrol grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arasında HFV varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,002$).

Çalışmaya dahil edilen 222 kesin tanı alan ve *MEFV* gen mutasyonu taşıyan FMF hastasının 43'ü (% 19,02) HFV bel-1 dizi varlığı açısından pozitif bulunurken 205 kesin tanı alan fakat mutasyon taşımayan semptomatik FMF hastasının 33'ü (%16,09) pozitif bulunmuştur. FMF açısından sağlıklı 200 kontrol grubunun ise 15'i (%7,5) HFV açısından pozitif bulgular göstermiştir. Mutasyon taşıyan FMF hastaları ile kontrol grubu HFV bel-1 dizi varlığı yönünden karşılaştırıldığında bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur ($p=0,0001$). Mutasyon taşımayan semptomatik FMF hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında da yine fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,007$). Mutasyon taşımadığı halde Tel-hashomer kriterlerine göre kesin tanı alan semptomatik FMF hastalarında HFV bel-1 dizi varlığının kontrollere göre yüksek frekansta bulunması, semptomatik özelliklerin oluşumunda bu patojenik etkenin neden olabileceğini düşündürmüştür.

FMF hastaları taşıdıkları *MEFV* gen mutasyonlarına bakılmaksızın sadece Tel-hashomer kriterlerine göre kesin tanı alanlar şeklinde değerlendirildiğinde 427 (222+205) FMF hasta grubu Tel-hashomer kriterlerine göre tanı almayan sağlıklı konroller ile karşılaştırıldığında HFV pozitif bulgular, hastaların %17,8'inde gözlenirken kontrol grubunda ise sadece %7,5'inde gözlenmiştir. Yine aradaki fark istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$).

Yaptığımız çalışmanın sonuçları daha önce yapılan ve HFV'nin insanlardaki patojenik etkisini gösteren diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Bununla beraber yapılan bu çalışma FMF hastalarında HFV varlığını gösteren ilk çalışmadır. Sadece, HFV'nin sakroidosis, idiopatik akciğer fibrozu veya diğer solunum hastalıkları için varsayılan patojenlerden biri olup olmadığını araştırmak için Japonya'da yapılan bir çalışmada çeşitli akciğer hastalığı olan 320 hastanın alveolar hücre mRNA'sı veya

periferik kan lökositlerinin genomic DNA'sında HFV gen elementlerinin varlığı araştırılmıştır. Yapılan çalışmada aynı zamanda FMF hastası olan üç hastada HFV gen elementleri tespit edilirken diğer 317 hastanın hiçbirinde pozitif HFV varlığı saptanmamıştır (Tamura ve Kira, 1995).

HFV ve otoimmün romatizmal hastalıklar arasındaki ilişkiyi belirlemek için, Çin'de yapılan bir çalışmada da Progresif Sistemik Skleroz (PSS), Romatoid Artrit (RA), Sistemik Lupus Eritramotuzus (SLE) hastalarında HFV 'nin varlığı bel-1 duyarlı indikatör hücre hattı ve PCR teknikleri kullanılarak incelenmiş ve sonuçta romatizmal hastalığı olan bu hastalarda HFV *bell* geni ve proteininin yüksek ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, HFV'nin otoimmüniteyi indükleyen çevresel faktörlerden biri ve otoimmün romatolojik hastalıklara neden olan bir ajan olabileceğini önermektedir (Sun ve ark., 2006).

Bu çalışmalar ve bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları, HFV'nin FMF'in klinik semptomlarının tetiklenmesinde olası bir patojenik etken olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; çalışmada klinik olarak Tel-Hashomer kriterlerine göre kesin tanı alarak değerlendirildiği halde moleküler genetik analiz sonucunda *MEFV* gen mutasyonu taşımayan hastalarda bu klinik özelliklerin ortaya çıkmasına neden olabilecek olan farklı hedef gen mutasyonlarını ve insan köpüksü virüsünün etkisini belirlemeyi amaçladık. FMF ülkemizde çok yaygın olarak görülen bir hastalık olup klinik tanının kesinleştirilmesi çok büyük önem arz etmektedir. Çalışma sonucunda, FMF tek gen kalıtımı gösteren bir hastalık olmasına rağmen fenotipik özelliklerin oluşmasında *MEFV* gen mutasyonlarının dışında başka etmenlerin de rol oynayabileceğini düşündüren veriler elde edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde; semptomal benzerliklerine karşın, *TNFRSF1A* geni R92Q mutasyonunun karşılaştırılan iki grupta yaklaşık sıklıkta görülmesi ve çalışılan her iki grupta da *CIAS1* geni L307P mutasyonunun gözlenmemesi FMF'in, TRAPS ve incelediğimiz diğer otoinflamatuvar hastalık ile ilişkili olmadığı ihtimalini yükseltmektedir. Bununla beraber, *VEGF* geni 936 C/T polimorfizminin FMF'in fenotipik özelliklerinin ortaya çıkmasında etkili olabileceğini gösteren veriler elde edilmiştir. Bu etkinin VEGF'nin lökosit kemotaksisini uyarması yoluyla olabileceği düşünülebilir. Bu da, bu araştırmada taranan ve *MEFV* geninde yaygın olarak görülen 12 mutasyondan hiç birini taşımayan kontrol grubunda FMF semptomlarının görülmesine neden olmuş olabilir. Yaptığımız çalışmada aynı zamanda FMF hastaları ve kontrol grubunu oluşturan bireyler insan köpüksü virüs varlığı açısından incelenmiştir. Tel hashomer kriterlerine göre kesin tanı almış mutasyon taşıyan FMF hastaları ve mutasyon taşımayan semptomal FMF hastaları ile sağlıklı kontrol grubu virüs varlığı açısından karşılaştırılmıştır. Sonuçta kesin tanı alan hastalar sağlıklı kontrollere oranla virüs varlığı açısından önemli derecede farklı bulunmuştur. Bu sonuç, tek gen kalıtımı göstermesine rağmen, FMF'in klinik tablosunda yalnızca *MEFV* gen mutasyonlarının değil, başka etmenlerin de rol oynayabileceği görüşünü desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- Achong BG, Mansell PW, Epstein MA. A new human virus in cultures from a nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol.* 1971;103(2):18.
- Aganna E, Hawkins PN, Ozen S, Pettersson T, Bybee A, Mc- Kee SA, Lachmann HJ, Karenko L, Ranki A, Bakaloglu A, Besbas N, Topaloglu R, Hoffman HM, Hitman GA, Woo P, McDermott MF. Allelic variants in genes associated with hereditary periodic fever syndromes as susceptibility factors for reactive systemic AA amyloidosis. *Genes Immun.* 2004;5(4):289-293.
- Aganna E, Martinon F, Hawkins PN, Ross JB, Swan DC, Booth DR, Lachmann HJ, Bybee A, Gaudet R, Woo P, Feighery C, Cotter FE, Thome M, Hitman GA, Tschopp J, McDermott MF. Association of mutations in the NALP3/*CIAS1*/PYPAF1 gene with a broad phenotype including recurrent fever, cold sensitivity, sensorineural deafness, and AA amyloidosis. *Arthritis Rheum.* 2002;46(9):2445-52.
- Agostini L, Martinon F, Burns K, McDermott MF, Hawkins PN, Tschopp J. NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity.* 2004;20(3):319-325.
- Aksentijevich I, Nowak M, Mallah M, Chae JJ, Watford WT, Hofmann SR, Stein L, Russo R, Goldsmith D, Dent P, Rosenberg HF, Austin F, Remmers EF, Balow JE Jr, Rosenzweig S, Komarow H, Shoham NG, Wood G, Jones J, Mangra N, Carrero H, Adams BS, Moore TL, Schikler K, Hoffman H, Lovell DJ, Lipnick R, Barron K, O'Shea JJ, Kastner DL, Goldbach-Mansky R. De novo *CIAS1* mutations, cytokine activation, and evidence for genetic heterogeneity in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID): a new member of the expanding family of pyrin-associated autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum.* 2002;46(12):3340-3348.
- Aksentijevich I, D Putnam C, Remmers EF, Mueller JL, Le J, Kolodner RD, Moak Z, Chuang M, Austin F, Goldbach-Mansky R, Hoffman HM, Kastner DL. The clinical continuum of cryopyrinopathies: novel *CIAS1* mutations in North American patients and a new cryopyrin model. *Arthritis Rheum.* 2007;56(4):1273-1285.
- Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E, Hull K, Oh HH, Goldbach-Mansky R, Dean J, Athreya B, Reginato AJ, Henrickson M, Pons-Estel B, O'Shea JJ, Kastner DL. The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in *TNFRSF1A*, ancestral origins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet.* 2001;69(2):301-314.
- Aksentijevich I, D Putnam C, Remmers EF, Mueller JL, Le J, Kolodner RD, Moak Z, Chuang M, Austin F, Goldbach-Mansky R, Hoffman HM, Kastner DL. The

clinical continuum of cryopyrinopathies: novel CIAS1 mutations in North American patients and a new cryopyrin model. *Arthritis Rheum.* 2007;56(4):1273-85.

Aldea A, Campistol JM, Arostegui J I, Rius J, Maso M, Vives J, and Yagüe J. A Severe Autosomal-Dominant Periodic Inflammatory Disorder With Renal AA Amyloidosis and Colchicine Resistance Associated to the *MEFV* H478Y Variant in a Spanish Kindred: An Unusual Familial Mediterranean Fever Phenotype or Another *MEFV*-Associated Periodic Inflammatory Disorder?. *Am J Med Genet A.* 2004;124A(1):67-73.

Almeida de Jesus A, Goldbach-Mansky R. Monogenic autoinflammatory diseases: concept and clinical manifestations. *Clin Immunol.* 2013 Jun;147(3):155-174.

Anderson JP, Mueller JL, Rosengren S, Boyle DL, Schaner P, Cannon SB, Goodyear CS, Hoffman HM. Structural, expression, and evolutionary analysis of mouse *CIAS1*. *Gene.* 2004;338(1):25-34.

Ataman Ş, Yalçın P. *Romatoloji*. 1. Baskı, Ankara, MNMedikal ve Nobel Tıp Kitabevi. 2012;971-972.

Aut IK, Dubuc M, Sportouch J, Minodier P, Garnier JM, Touitou I. Phenotype-genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features. *Rheumatology.* 2000;39:1274-1279.

Bakkaloğlu A. Familial Mediterranean fever. *Pediatric Nephrol.* 2003;18:853-859.

Barski L, Shalev L, Zektser M, Malada-Mazri H, Abramov D, Rafaely Y. Large hemorrhagic pericardial effusion. *Isr. Med. Assoc. J.* 2012;14(6):367-371.

Bauernfeind F, Hornung V. Of inflammasomes and pathogens—sensing of microbes by the inflammasome. *EMBO Mol Med.* 2013;5:814-826.

Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet.* 1998;351:659-664.(a)

Ben-Chetrit E, Levy M, Colchicine: 1998 update. *Semin. Arthritis Rheum.*(b) 1998;28(1):48-59.

Ben-Chetrit E, Touitou I. Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum.* 2009;61(10):1447-1453.

Ben-Zvi I, Herskovizh C, Kukuy O, Kassel Y, Grossman C, Livneh A. Familial Mediterranean fever without *MEFV* mutations: a case-control study. *Orphanet J Rare Dis.* 2015;10:34.

Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology.* 2004;68:1017-1021.

- Bodar EJ, Drenth JP, Van Der Meer JW, Simon A. Dysregulation of innate immunity: hereditary periodic fever syndromes. *Br J Haematol.* 2009;144:279-302.
- Booty MG, Chae J, Masters SL, Remmers EF, Barham B, Le JM, Barron KS, Holland SM, Kastner DL, Aksentijevich I. Familial Mediterranean fever with a single *MEFV* mutation: where is the second hit?. *Arthritis Rheum.* 2009;60(6):1851-1861.
- Bothe K, Aguzzi A, Lassmann H, Rethwilm A, Horak I. Progressive encephalopathy and myopathy in transgenic mice expressing human foamy virus genes. *Science.* 1991;253(5019):555-557.
- Broderick L, De Nardo D, Franklin BS, Hoffman HM, Latz E. The inflammasomes and autoinflammatory syndromes. *Annu Rev Pathol.* 2015;10:395-424.
- Brogan IJ, Khan N, Isaac K, Hutchinson JA, Pravica V, Hutchinson IV. Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Hum Immunol.* 1999;60(12):1245-1249.
- Bruey JM, Bruey-Sedano N, Newman R, Chandler S, Stehlik C, Reed JC. PAN1/NALP2/PYPAF2, an inducible inflammatory mediator that regulates NF-kappaB and caspase-1 activation in macrophages. *J Biol Chem.* 2004;279(50):51897-907.
- Bulua AC, Mogul DB, Aksentijevich I, Singh H, He DY, Muenz LR, Ward MM, Yarboro CH, Kastner DL, Siegel RM, Hull KM. Efficacy of etanercept in the tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: a prospective, open-label, dose-escalation study. *Arthritis Rheum.* 2012;64(3):908-913.
- Caminero A, Comabella M, Montalban X. Role of tumour necrosis factor (TNF)- α and TNFRSF1A R92Q mutation in the pathogenesis of TNF receptor-associated periodic syndrome and multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol.* 2011;166(3):338-45.
- Cantarini L, Rigante D, Lucherini OM, Cimaz R, Laghi Pasini F, Baldari CT, Benucci M, Simonini G, Di Sabatino V, Brizi MG, Galeazzi M. Role of etanercept in the treatment of tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: personal experience and review of the literature. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23(3):701-707.
- Cantarini L, Lucherini OM, Muscari I, Frediani B, Galeazzi M, Brizi MG, Simonini G, Cimaz R. Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): state of the art and future perspectives. *Autoimmun Rev.* 2012;12(1):38-43.
- Cantarini L, Lucherini OM, Brucato A, Barone L, Cumetti D, Iacoponi F, Rigante D, Brambilla G, Penco S, Brizi MG, Patrosso MC, Valesini G, Frediani B, Galeazzi

- M, Cimaz R, Paolazzi G, Vitale A, Imazio M. Clues to detect tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) among patients with idiopathic recurrent acute pericarditis: results of a multicentre study. *Clin Res Cardiol.* 2012 ;101(7):525-531.
- Caorsi R, Lepore L, Zulian F, Alessio M, Stabile A, Insalaco A, Finetti M, Battagliese A, Martini G, Bibalo C, Martini A, Gattorno M. The schedule of administration of canakinumab in cryopyrin associated periodic syndrome is driven by the phenotype severity rather than the age. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(1):33.
- Cattan D, Notarnicola C, Molinari N, Touitou I. Inflammatory bowel disease in non-Ashkenazi Jews with familial Mediterranean fever. *Lancet.* 2000;355:378–379.
- Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C, Kingma DW, Horwitz ME, Mansfield E, Holland SM, O'Shea JJ, Rosenberg HF, Malech HL, Kastner DL. The gene for familial Mediterranean fever, *MEFV*, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood.* 2000;95(10):3223-3231.
- Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, Kastner DL. The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(26):9982-9987.
- Cheng C-Y, Chang C-S, Liu C-J, Kao S-Y. Vascular endothelial growth factor 936 C/T polymorphism is associated with vascular invasion in oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106 (1):79-84.
- Contassot E, Beer HD, French LE. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:13590.
- Conti BJ, Davis BK, Zhang J, O'connor W Jr, Williams KL, Ting JP. CATERPILLER 16.2 (CLR16.2), a novel NBD/LRR family member that negatively regulates T cell function. *J Biol Chem.* 2005;280(18):18375-18385.
- Cosan F, Ermence Z, Erbag G, Azakli H, Yilmazer B, Yazici A, Ekmekci SS, Abaci N, Ustek D, Cefle A. The association of *TNFRSF1A* gene and *MEFV* gene mutations with adult onset Still's disease. *Rheumatol Int.* 2013;33:1675–1680.
- De Jesus AA, Goldbach-Mansky R. Monogenic autoinflammatory diseases: Concept and clinical manifestations. *Clinical Immunology.* 2013;147:155–174.
- Delpech M, Grateau G. Genetically determined recurrent fevers. *Current Opinion in Immunology.* 2001;13:539-542.
- 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 Rheum.* 2004;50(11):3679-3689.
- Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011;117:3720–3732.(a)
- Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol.* 2011;41(5):1203-1217.(b)
- Dinc A, Erdem H, Rowczenio D, Simsek I, Pay S, Bahce M, Lachmann H. Autosomal dominant periodic fever with AA amyloidosis: tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) in a Turkish family. *J Nephrol.* 2005;18(5):626–629.
- Dode C, Hazenberg BP, Pecheux C, Cattan D, Moulin B, Barthelemy A, Gubler MC, Delpech M, Grateau G. Mutational spectrum in the *MEFV* and *TNFRSF1A* genes in patients suffering from AA amyloidosis and recurrent inflammatory attacks. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17:1212–1217.
- Domingo C, Touitou I, Bayou A, Ozen S, Notarnicola C, Dewalle M, Demaille J, Buades R, Sayadat C, Levy M, Ben-Chetrit, E. "Familial Mediterranean fever in the 'Chuetas' of Mallorca: a question of Jewish origin or genetic heterogeneity." *Eur J Hum Genet.* 2000;8(4):242-246.
- Dowds TA, Masumoto J, Chen FF, Ogura Y, Inohara N, Núñez G. Regulation of cryopyrin/Pypaf1 signaling by pyrin, the familial Mediterranean fever gene product. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;302(3):575-580.
- Dowds TA, Masumoto J, Zhu L, Inohara N, Nunez G. Cryopyrin-induced interleukin 1beta secretion in monocytic cells: enhanced activity of disease-associated mutants and requirement for ASC. *J Biol Chem.* 2004;279:21924-21928.
- Duncan JA, Bergstralh DT, Wang Y, Willingham SB, Ye Z, Zimmermann AG, Ting JP. Cryopyrin/NALP3 binds ATP/dATP, is an ATPase, and requires ATP binding to mediate inflammatory signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(19):8041-8046.
- Enders J, Peebles T. Propagation in tissue culture of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1954;86:277-287.
- Federici S, Caorsi R, Gattorno M. The autoinflammatory diseases. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13602.
- Feldmann J, Prieur AM, Quartier P, Berquin P, Certain S, Cortis E, Teillac-Hamel D, Fischer A, de Saint Basile G. Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in *CIAS1*, a gene highly expressed in

- polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet.* 2002;71(1):198-203.
- Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med (Berl).* 1999;77(7):527-43.
- Ferrero Miliani N, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β secretion. *Clinical and Experimental Immunology.* 2006;147:227-235.
- Fonnesu C, Cerquaglia C, Giovinale M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, La Regina M, Gasbarrini G, Manna R. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine.* 2009;76(3):227-233.
- Fujisawa A, Kambe N, Saito M, Nishikomori R, Tanizaki H, Kanazawa N, Adachi S, Heike T, Sagara J, Suda T, Nakahata T, and Miyachi Y. Disease-associated mutations in *CIAS1* induce cathepsin B-dependent rapid cell death of human THP-1 monocytic cells. *Blood.* 2007;109(7):2903-2911.
- Galon J, Aksentijevich I, McDermott MF, O'Shea JJ, Kastner DL. *TNFRSF1A* mutations and autoinflammatory syndromes. *Current Opinion in Immunology.* 2000;12:479-486.
- Gattorno M, Pelagatti MA, Meini A, Obici L, Barcellona R, Federici S, Buoncompagni A, Plebani A, Merlini G, Martini A. Persistent efficacy of anakinra in patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum.* 2008;58(5):1516-1520.
- Gershoni-Barush R, Shinawi M, Leah K, Badarnah K, Brik R. Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:634-637.
- Goldfinger S. The Inherited autoinflammatory syndrome: A decade of discovery. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2009;120:413-418.
- Gram A M, Frenkel J, Rensing M E. Inflammasomes and viruses: cellular defence versus viral offence. *Journal of General Virology.* 2012; 93:2063-2075.
- Granel B, Serratrice J, Dodé C, Grateau G, Disdier P, Weiller PJ. Overlap syndrome between FMF and TRAPS in a patient carrying *MEFV* and *TNFRSF1A* mutations. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25:93-95.
- Grateau G, Drenth JPH, Delpech M. Hereditary fevers. *Curr Opin Rheumatol.* 1999;11:75-78.
- Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, Richards N, Babcock C, Schaller M, Cesena T. "Fire and ICE: the role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis." *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20(4):45-53.

- Gunesacar R, Erken E, Ozer HT, Bozkurt B, Dinkci S, Deveci D. Analysis of vascular endothelial growth factor gene 936 C/T polymorphism in patients with familial Mediterranean fever. *Int J Immunogenet.* 2008;35(1):33-36.
- Halff E F. General Introduction. Halff E F. Editör, Structural and functional studies on Nod Like Receptors: insights into NAIP/NLRC4 inflammasome formation. Uitgeverij BOXPress, 's-Hertogenbosch. 2013;10-33.
- Han SW, Kim GW, Seo JS, Kim SJ, Sa KH, Park JY, Lee J, Kim SY, Goronzy JJ, Weyand CM, Kang YM: VEGF gene polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2004 ;43(9):1173-1177.
- Haneklaus M, O'Neill L AJ, Coll RC. Modulatory mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome in inflammation: recent developments. *Current Opinion in Immunology.* 2013;25: 40-45.
- Hansson GK, Edfeldt K. "Toll to be paid at the gateway to the vessel wall". *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25 (6): 1085–1087.
- Hashkes PJ, Spalding SJ, Giannini EH, Huang B, Johnson A, Park G, Barron KS, Weisman MH, Pashinian N, Reiff AO, Samuels J, Wright DA, Kastner DL, Lovell DJ. Riloncept for colchicine-resistant or -intolerant familial Mediterranean fever: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2012;157(8):533-541.
- Heller H, Sohar E, Pras M. Ethnic distribution and amyloidosis in familial Mediterranean fever (FMF). *Pathol Microbiol (Basel).* 1961;24:718-723.
- Hernandez J. C, Latz E, Urcuqui-Inchima S. HIV-1 Induces the First Signal to Activate the NLRP3 Inflammasome in Monocyte-Derived Macrophages. *Intervirology.* 2014;57:36–42.
- Hofer M, Mahlaoui N, Prieur AM. A child with a systemic febrile illness-differential diagnosis and management. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006;20(4):627-640.
- Hoffman HM, Wanderer AA, Broide DH. Familial cold autoinflammatory syndrome: phenotype and genotype of an autosomal dominant periodic fever. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001;108:615–620.(a)
- Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD. Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet.* 2001;29(3):301-305.(b)
- Hoffman HM, Familial Cold Autoinflammatory Syndrome. (Published in final edited form as:) *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108(4): 615–620.(c)

- Hoffmann F, Lohse P, Stojanov S, Shin YS, Renner ED, Kéry A, Zellerer S, Belohradsky BH. Identification of a novel mevalonate kinase gene mutation in combination with the common MVK V377I substitution and the low-penetrance *TNFRSF1A* R92Q mutation. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(4):510–512.
- Hosseini AM, Majidi J, Baradaran B, Yousefi M. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Adv Pharm Bull.* 2015;5(1): x-x.
- Hu X, Yang W, Liu R, Geng Y, Qiao W, Tan J. N-Myc Interactor Inhibits Prototype Foamy Virus by Sequestering Viral Tas Protein in the Cytoplasm. *J Virol.* 2014;88(12):7036-44.
- Huggins ML, Radford PM, McIntosh RS, Bainbridge SE, Dickinson P, Draper-Morgan KA, Tighe PJ, Powell RJ. Shedding of mutant tumor necrosis factor receptor superfamily 1A associated with tumor necrosis factor receptor associated periodic syndrome: differences between cell types. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2651–2659.
- Hull KM, Drewe E, Aksentijevich I, Singh HK, Wong K, McDermott EM, Dean J, Powell RJ, Kastner DL. The TNF-receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): emerging concepts of an auto-inflammatory disorder. *Medicine (Baltimore).* 2002;81:349–368.
- Imirzalioglu N, Dursun A, Tastan B, Soysal Y, Yakicier MC. *MEFV* gene is a probable susceptibility gene for Behcet's disease. *Scand. J. Rheumatol.* 2005;34:56–58.
- InfEVERS: an online database for autoinflammatory mutations <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infEVERS/>, 2015.
- Janeway TC, Mosenthal HO. An unusual paroxysmal syndrome, probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism. *Trans. Assoc. Am. Phys.* 1908;23:15.
- Jéru I, Hayrapetyan H, Duquesnoy P, Sarkisian T, Amselem S. PYPAF1 nonsense mutation in a patient with an unusual autoinflammatory syndrome. Role of PYPAF1 in inflammation. *Arthritis & Rheumatism.* 2006;54(2): 508-514.
- Jonathan S, Kastner D. FMF at the millenium clinical spectrum, ancient mutations and survey of 100 American referrals to the NIH. *Medicine.* 1998;77:268-297.
- Kamada AJ, Pontillo A, Guimarães RL, Loureiro P, Crovella S, Cavalcanti Brandão LA. NLRP3 polymorphism is associated with protection against human T-lymphotropic virus 1 infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014;109(7):960-963.
- Kambe N, Nakamura Y, Saito M, Nishikomori R. The inflammasome, an innate immunity guardian, participates in skin urticarial reactions and contact hypersensitivity. *Allergology International.* 2010;59:105-113.

- Kanariou M, Tantou S, Varela I, Raptaki M, Petropoulou C, Nikas I, Valari M. Successful Management of Cryopyrin-Associated Periodic Syndrome With Canakinumab in Infancy. *Pediatrics*. 2014; 134(5):1468 -1473.
- Karatay S, Melikoğlu MA. TRAPS: Otozomal Dominant Bir Otoinflamatuvar Sendrom. *The Eurasian Journal of Medicine*. 2007;39:210-213.
- Kasapçopur Ö, Arısoy N. Ailesel Akdeniz Ateşi ve diğer otoenflamatuar hastalıklar. *Türk Pediatri Arşivi*. 2006; 41: 9- 17.
- Kastner DL. Familial Mediterranean fever: the genetics of inflammation. *Hosp Pract* (1995). 1998;33(4):131-4, 139-40, 143-6 passim.
- Kastner DL, O'Shea J. A fever gene comes in from the cold. *Nature*. 2001;29:241-242.
- Kastner DL. Hereditary periodic fever syndromes. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*. 2005;1:74–81.
- Kees S, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Pras M, Livneh A. Attacks of pericarditis as a manifestation of familial Mediterranean fever (FMF). *QJM*. 1997;90(10):643–647.
- Keller A, Partin KM, Löchelt M, Bannert H, Flügel RM, Cullen BR. Characterization of the transcriptional trans activator of human foamy retrovirus. *J Virol*. 1991;65:2589-2594.
- Khare S, Luc N, Dorfleutner A, Stehlik C. Inflammasomes and their activation. *Crit Rev Immunol*. 2010;30(5):463-487.
- Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, Flavell RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science*. 2005;307(5710):731-734.
- Kone-Paut I, Hentgen V, Guillaume-Czitrom S, Compeyrot- Lacassagne S, Tran TA, Touitou I. The clinical spectrum of 94 patients carrying a single mutated *MEFV* allele. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48: 840–842.
- Kriegel MA, Hüffmeier U, Scherb E, Scheidig C, Geiler T, Kalden JR, Reis A, Lorenz HM. Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome characterized by a mutation affecting the cleavage site of the receptor: implications for pathogenesis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(8):2386-2388.
- Kuemmerle-Deschner JB, Haug I. Canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome: an update for clinicians. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2013;5(6):315–329.

- Kummer JA, Broekhuizen R, Everett H, Agostini L, Kuijk L, Martinon F, van Bruggen R, Tschopp J. Inflammasome components NALP 1 and 3 show distinct but separate expression profiles in human tissues suggesting a site-specific role in the inflammatory response. *J Histochem Cytochem.* 2007;55(5):443-452.
- Kundakcı A, Pirat A. Toll Benzeri Reseptörler. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi.* 2012;10:63-73.
- Kutukçuler N, Gulez N, Karaca N, Aksu G, Berdeli A. A novel Y331X nonsense mutation in *TNFRSF1A* gene in two unrelated Turkish families with periodic fever syndrome. *Int J Immunogenet.* 2010;37(1):21-25.
- Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, Gallimore JR, Sabin CA, Gillmore JD, Hawkins PN. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med.* 2007;356(23):2361-2371.
- Lagaye S, Vexiau P, Morozov V, Guenebaut-Claudet V, Tobaly-Tapiero J, Canivet M, Cathelineau G, Peries J, Emanoil-Ravier R. Human spumaretrovirus-related sequence in the DNA of leukocytes from patients with Graves' disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89:10070-10074.
- 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.
- Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat. Rev. Immunol.* 2013;13:397-411.
- Lee H, Kim SH, Kang MR, Kim WB, Cho BY, Kim S. Prevalence of Human Foamy Virus-Related Sequences in the Korean Population. *J Biomed Sci.* 1998;5:267-273.
- Lidar M, Scherrmann JM, Shinar Y, Chetrit A, Niel E, Gershoni-Baruch R, Langevitz P, Livneh A. Colchicine nonresponsiveness in familial Mediterranean fever: clinical, genetic, pharmacokinetic, and socioeconomic characterization. *Semin Arthritis Rheum.* 2004;33(4):273-282.
- Liepinsh E, Barbals R, Dahl E, Sharipo A, Staub E, Otting G. The death-domain fold of the ASC pyrin domain, presenting a basis for pyrin/pyrin recognition. *Journal of Molecular Biology.* 2003;332:1155-1163.
- Lindemann D, Rethwilm A. Characterization of a Human Foamy Virus 170-Kilodalton Env-Bet Fusion Protein Generated by Alternative Splicing. *Journal Of Virology.* 1998; 72(5):4088-4094.
- Liu WT, Kao KP, Liu YC, Chang KS. Human foamy virus genome in the thymus of myasthenia gravis patients. *Chin J Microbiol Immunol,*1996; 29:162-165.

- Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, Migdal A, Padeh S, Pras M. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1997;40(10):1879-1885.
- Locatelli S, Peeters M. Cross-species transmission of simian retroviruses: how and why they could lead to the emergence of new diseases in the human population. *AIDS.* 2012; 26:659-673.
- Löchelt M, Muranyi W, Flügel RM. Human foamy virus genome possesses an internal, bel-1 dependent and functional promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 90:7317–7321.
- Löchelt M, Zentgraf HW, Flügel RM. Construction of an infectious DNA clone of the full-length human spumaretrovirus genome and mutagenesis of the bell gene. *Virology.* 1991:184:43–54.
- Ma QL, Yu M, Luo D, Tan J, Qiao WT. Identification of prototype foamy virus Bell nuclear localization signal and its corresponding importins, *Bing Du Xue Bao.* 2014;30(4):346-352.
- Maeda S, Hsu LC, Liu H, Bankston LA, Iimura M, Kagnoff MF, Eckmann L, Karin M. Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science.* 2005;307(5710):734-738.
- Mahnke C, Kashaiya P, Rossle J, Bannert H, Levin A, Blattner WA, Dietrich M, Luande J, Lochelt M, Friedman-Kien AE. Human spumavirus antibodies in sera from African patients. *Arch Virol.* 1992;123:245–253.
- Majeed HA, Barakat M. "Familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis) in children: analysis of 88 cases." *Eur J Pediatr.* 1989;148(7):636-641.
- Manji GA, Wang L, Geddes BJ, Brown M, Merriam S, Al-Garawi A, Mak S, Lora JM, Briskin M, Jurman M, Cao J, DiStefano PS, Bertin J. PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-kappa. *B. J Biol Chem.* 2002;277(13):11570-11575.
- Marek-Yagel D, Bar-Joseph I, Pras E, Berkun Y. Is E148Q a benign polymorphism or a disease-causing mutation?. *J. Rheumatol.* 2009;36(10):2372.(a)
- Marek-Yagel D, Berkun Y, Padeh S, Abu A, Reznik-Wolf H, Livneh A, Pras M, Pras E. Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2009; 60: 1862–1866.(b)
- Marek-Yagel D, Berkun Y, Padeh S, Lidar M, Shinar Y, Bar-Joseph I, Reznik-Wolf H, Langevitz P, Livneh A, Pras E. Role of the R92Q *TNFRSF1A* Mutation in Patients With Familial Mediterranean Fever. *Arthritis Care Res.* 2010;62(9):1294-1298.

- Mariathasan S, Monack DM. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2007;7:31-40.
- Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*. 2002;10(2):417-426.
- Masters SL, Simon A, Aksentjevich I, Kastner DL. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2009;27:621-668.
- Masters SL, Lobito AA, Chae J, Kastner DL. Recent advances in the molecular pathogenesis of hereditary recurrent fevers. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2006;6(6):428-433
- McDermott EM, Smillie DM, Powell RJ. Clinical spectrum of familial Hibernian fever: a 14-year follow-up study of the index case and extended family. *Mayo Clin Proc*. 1997;72:806-817.
- McDermott MF, Aksentjevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, Mansfield E, Gadina M, Karenko L, Pettersson T, McCarthy J, Frucht DM, Aringer M, Torosyan Y, Teppo AM, Wilson M, Karaarslan HM, Wan Y, Todd I, Wood G, Schlimgen R, Kumarajeewa TR, Cooper SM, Vella JP, Amos CI, Mulley J, Quane KA, Molloy MG, Ranki A, Powell RJ, Hitman GA, O'Shea JJ, Kastner DL. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell*. 1999;97(1):133-144.
- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. "A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity". *Nature*. 1997;388 (6640): 394-397.
- Meiering CD, Linial ML. Historical perspective of foamy virus epidemiology and infection. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(1):165-176.
- Milhavet F, Cuisset L, Hoffman HM, Slim R, El-Shanti H, Aksentjevich I, Lesage S, Waterham H, Wise C, Sarrauste de Menthiere C, Touitou I. The infEVERS autoinflammatory mutation online registry: update with new genes and functions. *Hum Mutat*. 2008;29(6):803-808.
- Modlin RL. Innate immunity: ignored for decades, but not forgotten. *J Invest Dermatol*. 2012;132:882-886.
- Moser C, Pohl G, Haslinger I, Knapp S, Rowczenio D, Russel T, Lachmann HJ, Lang U, Kovarik J. Successful treatment of familial Mediterranean fever with

- Anakinra and outcome after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(2):676-678.
- Murray SM, Linial ML. Foamy virus infection in primates. *J Med Primatol*. 2006; 35:225-235.
- Nam EJ, Han SW, Kim SU, Cho JH, Sa KH, Lee WK, Park JY, Kang YM. Association of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms with behcet disease in a Korean population. *Hum Immunol*. 2005;66(10):1068-1073.
- Neven B, Callebaut I, Prieur AM, Feldmann J, Bodemer C, Lepore L, Derfalvi B, Benjaponpitak S, Vesely R, Sauvain MJ, Oertle S, Allen R, Morgan G, Borkhardt A, Hill C, Gardner-Medwin J, Fischer A, de Saint Basile G. Molecular basis of the spectral expression of *CIAS1* mutations associated with phagocytic cell-mediated autoinflammatory disorders CINCA/NOMID, MWS, and FCU. *Blood*. 2004;103(7):2809-2815.
- O'Connor W Jr, Harton JA, Zhu X, Linhoff MW, Ting JP. Cutting edge: *CIAS1*/cryopyrin/PYPAF1/NALP3/CATERPILLER 1.1 is an inducible inflammatory mediator with NF-kappa B suppressive properties. *J Immunol*. 2003;171(12):6329-6333.
- Ogura Y, Sutterwala, FS, Flavell RA. The inflammasome: First line of the immune response to cell stress. *Cell*. 2006;126:659-662.
- Ouyang X, Ghani A, Mehal W Z. Inflammasome biology in fibrogenesis, *Biochim Biophys Acta*. 2013;1832(7):979-988.
- Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives. *Journal of Inflammation Research*. 2015;8:15–27.
- Özen S, Bilginer Y. A clinical guide to autoinflammatory diseases: familial Mediterranean fever and next-of-kin. *Nat. Rev. Rheumatol*. 2014;10:135–147.
- Özen S, Bakkaloglu A, Yilmaz E, Duzova A, Balci B, Topaloglu R, Besbas N. Mutations in the gene for familial Mediterranean fever: do they predispose to inflammation? *J Rheumatol*. 2003;30(9):2014-2018.
- Özkan E, Okur Ö, Ekmekçi A, Özcan R, Tag T. A new approach to the treatment of periodic fever. *Med Bull Istanbul*. 1972;5:44-49.
- Padeh S. Periodic fever syndromes. *Pediatr Clin N Am*. 2005; 52: 577- 609.
- Padeh S, Livneh A, Pras E, Shinar Y, Lidar M, Feld O, Berkun Y. Familial Mediterranean fever in children presenting with attacks of fever alone. *J Rheumatol*. 2010;37(4):865-869.

- Park H, Bourla AB, Kastner DL, Colbert RA, Siegel RM. Lighting the fires within: the cell biology of autoinflammatory diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 2012;12:570–580.
- Paut IK, Dubuc M, Sportouch J, Minodier P, Garnier JM, Touitou I. Phenotype-genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features. *Rheumatology.* 2000;39:1274-1279.
- Pras M. "Familial Mediterranean fever: from the clinical syndrome to the cloning of the pyrin gene." *Scand J Rheumatol.*1998;27(2):92-97.
- Rajan JV, Rodriguez D, Miao EA, Aderem A. TheNLRP3 inflammasome detects encephalomyocarditis virus and vesicular stomatitis virus infection. *J Virol.* 2011; 85:4167–4172.
- Ranson N, Eri R.The Role of Inflammasomes in Intestinal Inflammation. *American Journal of Medical and Biological Research.* 2013; 1(3): 64-76.
- Ravet N, Rouaghe S, Dodé C, Bienvenu J, Stirnemann J, Lévy P, Delpech M, Grateau G. Clinical significance of P46L and R92Q substitutions in the tumour necrosis factor superfamily 1A gene. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(9):1158-1162.
- Rua R, Lepelley A, Gessain A, Schwartz O. Innate sensing of foamy viruses by human hematopoietic cells. *J Virol.* 2012; 86(2):909-918.
- Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res.* 2000;37(6):443-8.
- Rethwilm A, Erlweim O, Baunach G, Maurer B, Meulen VT. The transcriptional transactivator of human foamy virus maps to the bel 1 genomic region. *Proc. Natd. Acad. Sci.* 1991; 88: 941-945.
- Rezaei N. TNF-receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): an autosomal dominant multisystem disorder, *Clin Rheumatol.* 2006;25:773–777.
- Rigante D. The fresco of autoinflammatory diseases from the pediatric perspective. *Autoimmun Rev* 2012;11:348–56.
- Rigante D, Vitale A, Lucherini OM, Cantarini L. The hereditary autoinflammatory disorders uncovered, *Autoimmunity Reviews.* 2014;13:892–900.
- Rubartelli A, Autoinflammatory diseases, *Immunology Letters.* 2014;161:226–230
- Saïb A, de Thé H. Molecular biology of the human foamy virus. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro.* 1996;13(1):254-260.

- Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan 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.
- Samuels J, Ozen S. Familial Mediterranean fever and the other autoinflammatory syndromes: evaluation of the patient with recurrent fever. *Curr Opin Rheumatol*. 2006;18(1):108-117.
- Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010;140(6):821-832.
- Schweizer M, Turek R, Reinhardt M, Neumann-Haefelin D. Absence of foamy virus DNA in Graves' disease. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1994;10:601-605.
- Shibuya M. VEGF-VEGFR system as a target for suppressing inflammation and other diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015; 15(2):135-144.
- Shinkai K, Kilcline C, Connolly MK, Frieden I J. The Pyrin Family of Fever Genes: Unmasking Genetic Determinants of Autoinflammatory Disease. *Arch Dermatol*. 2005;141(2):242-247.
- Shiohara M, Taniguchi S, Masumoto J, Yasui K, Koike K, Komiyama A, Sagara J. SC, which composed of a PYD and CARD, is up-regulated by inflammation and apoptosis in human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;293:1314-1318.
- Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann. Intern. Med*. 1945;23:21.
- Simon A, Bodar EJ, van der Hilst JC, van der Meer JW, Fiselier TJ, Cuppen MP, Drenth JP. Beneficial response to interleukin 1 receptor antagonist in traps. *Am J Med*. 2004;117(3):208-210.
- Simon A, van der Meer JW, Drenth JP. Familial Mediterranean fever—a not so unusual cause of abdominal pain. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol*. 2005;19(2):199-213.
- Simon A, van der Meer JW, Vesely R, Myrdal U, Yoshimura K, Duys P, Drenth JP; International HIDS Study Group. Approach to genetic analysis in the diagnosis of hereditary autoinflammatory syndromes. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(3):269-273.
- Simon A, van der Meer, JW. Pathogenesis of familial periodic fever syndromes or hereditary autoinflammatory syndromes. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2007;292:86-98.
- Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. "Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature." *Am J Med*. 1967;43(2):227-253.

- Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J. Biol. Chem.* 2002;277:21119–21122.
- Stack JH, Beaumont K, Larsen PD, Straley KS, Henkel GW, Randle JC, Hoffman HM. IL-converting enzyme/caspase-1 inhibitor VX-765 blocks the hypersensitive response to an inflammatory stimulus in monocytes from familial cold autoinflammatory syndrome patients. *J Immunol.* 2005;175(4):2630-2634.
- Stehlik C, Fiorentino L, Dorfleutner A, Bruey JM, Ariza EM, Sagara J, Reed JC. The PAAD/PYRIN-family protein ASC is a dual regulator of a conserved step in nuclear factor kappaB activation pathways. *J Exp Med.* 2002;196(12):1605-1615.
- Stjernberg–Salmela S. Tumour necrosis factor receptor–associated periodic syndrome (TRAPS). Identification of novel *TNFRSF1A* mutations and intracellular signalling defects. University of Helsinki Department of Dermatology, Allergology and Venereology and Department of Medicine. Helsinki, 2008. Academic dissertation.
- Stoffman N, Magal N, Shohat T, Lotan R, Koman S, Oron A, Danon Y, Halpern GJ, Lifshitz Y, Shohat M. Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever in various Jewish ethnic groups. *European Journal of Human Genetics.* 2000;8:307-310.
- Stojanov S, Lohse P, McDermott MF, Renner ED, Kéry A, Mirakian R, Hammond LJ, Aganna E, Hoffmann F, Zellerer S, Belohradsky BH. Periodic fever due to a novel *TNFRSF1A* mutation in a heterozygous Chinese carrier of *MEFV* E148Q. *Rheumatology.* 2004;43(4):526-527.
- Stojanov S, Kastner, DL. Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis, and treatment. *Current Opinion in Rheumatology.* 2005;17:586-599.
- Stojanov S, McDermott MF. The tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: current concepts. *Expert Rev. Mol. Med.* 2005;7(22):1–18
- Sun KH, Lin HY, Chen LW, Tai HY, Lin ML, Feng CK, Sung JS, Liu HF, Liu WT. Human foamy virus bell sequence in patients with autoimmune rheumatic diseases. *Clin Rheumatol.* 2006;25(5):694-699.
- Şahin C, Arıcıoğlu F. Depresyon ve Sitokin Hipotezinde Yeni Bir Boyut: ‘NLRP3 İnflamasyonu. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 2013;3(2):65-68.
- Şahin F I, Yılmaz Z, Yurtcu E, Baskin E. Comparison of the Results of PCR-RFLP and Reverse Hybridization Methods Used in Molecular Diagnosis of FMF. *Genet. Testi* 2008, 12 (1): 171-174.

- Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:335-376.
- Tamura N, Kira S. Human foamy virus and familial Mediterranean fever in Japan. *JAMA.* 1995;274(19):1509.
- The International FMF Consortium, Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell.* 1997;90:797-807.
- The French FMF Consortium. A candidate gene for familial mediterranean fever. *Nature Genetics* 1997;17:25-31.
- Ting JP, Kastner DL, Hoffman HM. CATERPILLERS, pyrin and hereditary immunological disorders. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(3):183-195.
- Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fiddes JC, Abraham JA. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem.* 1991;266(18):11947-11954.
- 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.
- Touitou I. The spectrum of familial Mediterranean fever (FMF) mutations. *Eur. J. Hum. Genet.* 2001;9(7):473-483.
- Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, Livneh A, Cattan D, Yalçinkaya F, Ozen S, Majeed H, Ozdogan H, Kastner D, Booth D, Ben-Chetrit E, Pugnère D, Michelon C, Séguret F, Gershoni-Baruch R; International Study Group for Phenotype-Genotype Correlation in Familial Mediterranean Fever. Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2007;56(5):1706-1712.
- Tschopp J, Martinon F, Burns K. NALPS: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:95-104.
- Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, Tutar E, Ozen S, Topaloglu R, Yilmaz E, Arici M, Bakkaloglu A, Besbas N, Akpolat T, Dinc A, Erken E; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore).* 2005;84(1):1-11.
- Turul T, Ersoy F. Dostu düşmanı ayıran bir doğal immünite bileşeni: toll-like reseptörler (TLR). *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2004;35:114-118.
- Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2):24-32.

- Uluca Ü, Ece A, Şen V, Coşkun S, Güneş A, Yel S, Tan İ, Karabel M, Şahin C. High frequency of E148Q sequence variation in children with familial Mediterranean fever in southeast Turkey. *Arch Argent Pediatr*. 2015;113(2):133-140.
- Vladimer GI, Marty-Roix R, Ghosh S, Weng D, Lien E. Inflammasome and host defenses against bacterial infections. *Current Opinion in Microbiology*. 2013;16(1): 23-31.
- Wanderer AA, Kolodner RD. Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle–Wells syndrome. *Nature Genet*. 2001;29:301–305.
- Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol*. 2004;5(8):800-808
- Weiss RA. A virus in search of a disease. *Nature*. 1988;333:497-498.
- Werts C, Girardin SE, Philpott DJ. TIR, CARD and PYRIN: three domains for an antimicrobial triad. *Cell Death and Differentiation*. 2006;13:798-815.
- Westarp ME, Fuchs D, Bartmann P, Hoff-Jorgensen R, Clausen J, Wachterm H, Kornhuber HH. Amyotrophic lateral sclerosis an enigmatic disease with B-cellular and antiretroviral immune responses. *Eur J Med*. 1993; 2:327–332.
- Wick G, Grubeck-Loebenstien B, Trieb K, Kalishnig G, Agusis A. Human foamy virus antigens in thyroid tissue of Graves' disease patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;99:153–156.
- Williamson LM, Hull D, Mehta R, Reeves WG, Robinson BH, Toghil PJ. Familial Hibernian fever. *Q J Med*. 1982;51:469–480.
- Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007;447:279-283.
- Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M. A 2-year-old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. *Mod Rheumatol*. 2014;20:1-4.
- Yigit S, Bagci H, Ozkaya O, Ozdamar K, Cengiz K, Akpolat T. *MEFV* mutations in patients with familial Mediterranean fever in the Black Sea region of Turkey: Samsun experience [corrected]. *The Journal of Rheumatology*. 2008,35(1):106-113.
- Younes M, Kahn MF, Meyer O. Hip involvement in patients with familial Mediterranean fever. A review of ten cases. *Joint Bone Spine*. 2002;69(6):560–565.

- Yu SF, Linial ML. Analysis of the role of the bel and bet open reading frames of human foamy virus by using a new quantitative assay. *J Virol.* 1993;67:6618–6624.
- Yu JW, Wu J, Zhang Z, Datta P, Ibrahimi I, Taniguchi S, Sagara J, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Cryopyrin and pyrin activate caspase-1, but not NF-kappaB, via ASC oligomerization. *Cell Death Differ.* 2006;13(2):236-249.
- Yuval Y, Hemo-Zisser M, Zemer D, Sohar E, Pras M. Dominant inheritance in two families with familial Mediterranean fever. *Am J Med Genet.* 1995;57:455-457.
- Zhang Y, Qiu H, Zhang H, Wang L, Zhuang C, Liu R. "Vascular endothelial growth factor A (VEGFA) polymorphisms in Chinese patients with rheumatoid arthritis". *Scand J Rheumatol.* 2013; 42(5):344-348.
- Zittermann SI, Issekutz AC. Endothelial growth factors VEGF and bFGF differentially enhance monocyte and neutrophil recruitment to inflammation. *J Leukoc Biol.* 2006;80(2):247-257.

EKLER

EK 1. Etik Kurulu Raporu

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMA ETİK KOMİSYONU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/1016 16.03.2012

Sayın: **Prof. Dr. Kuddusi CENGİZ**

Etik Komisyonumuza sunmuş olduğunuz **FMF Öntanılı Hastalarda CIAS1, TNFRSF1A ve VEGF Mutasyonları ile Human Foamy Virüs Varlığının Araştırılması** başlıklı Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu 2011/448 Karar nolu Genetik çalışma+ Anket çalışması nitelikli araştırma projeniz: Amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, OMÜ-TAEK yönergesine göre incelenmiş etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına; çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 26.01.2012 tarihli etik komisyonumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.


Prof. Dr. Abdulkadir BEDİR
Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu
Başkanı

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

*

ARASTIRMANIN ADI (ÇALIŞMANIN ACIK ADI):

FMF Öntanlı Hastalarda CIAS1, TNFRSF1A ve VEGF Mutasyonları ile Human Foamy Virüs Varlığının Araştırılması

Gönüllünün Baş Harfleri << >>

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız.

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDAMIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Katılmaya karar verirsiniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığımız tedavinin standardını etkilemeyecektir. Eğer isterseniz, bu klinik çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Ayrıca destekleyici kurum çalışmayı sonlandırmaya karar verirse bu durumda da çalışmadan çıkartılacaksınız.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR?

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) karın ve/veya göğüs ağrısı ve/veya eklem ağrısı ve şişliğinin eşlik ettiği tekrarlayan ateş nöbetleri ile karakterize bir genetik hastalıktır. Hastalık genellikle Akdeniz ve Ortadoğu kökenlileri, yani Yahudiler, Türkler, Araplar ve Ermenileri etkiler. FMF atakları hastaların yaklaşık %90'ında 20 yaşından önce başlar. Yarıdan fazlasında hayatın ilk 10 yılında ortaya çıkar. Erkeklerde kızlardan biraz daha fazla görülür. FMF genetik bir hastalıktır. Akdeniz ateşinden sorumlu gen MEFV genidir ve iltihabın sınırlandırılmasında rol oynayan bir Proteini kodlar. FMF 'de olduğu gibi, bu gen mutasyon taşırsa, bu sınırlandırma düzgün yapılamaz ve hasta ateşli ataklar geçirir.

FMF gelişiminden sorumlu olduğu düşünülen mutasyonların varlığını göstermek için genetik analiz yapılır. Son yıllarda hastalıkta ve tedavi de rol oynayabilecek diğer genler üzerine araştırmalar devam etmektedir.

Biz bu çalışmada, Ailesel Akdeniz Ateşi ön tanısı alan hastalarda bu hastalığı etkileyen kalıtsal ve çevresel faktörlerin araştırılmasını amaçlıyoruz.

EK 2. (Devamı)

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Araştırma için bir kez damardan 2 ml kan örneği alınacaktır. Moleküler genetik tanı testi uygulanacaktır. Ailesel Akdeniz Ateşini etkileyen genlerin bulunması ile bu hastalık için genotip-fenotip ilişkisi daha iyi aydınlatılacak ve tedavide olumlu katkılar sağlayacaktır.

BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Anketi okuyup uygun şekilde doldurmanız yeterlidir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Yapılacak olan çalışmanın size ve sağlığınıza herhangi bir zararı bulunmamaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Araştırmaya katılmanız nedeniyle size para ödenmeyecek yada sizden para talep edilmeyecektir.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Çalışmanın yürütülmesi ve yayımlanması aşaması dâhil, hiçbir aşamada sizin isminiz ve kişisel bilgileriniz kullanılmayacaktır.

Çalışma destekleyicisi kurum çalışma verilerinizi, sadece yukarıda belirtilen amaçlarda kullanacak olan kendi grubundaki diğer şirketler, hizmet alınan kurumlar, anlaşmalı firmalar ve diğer araştırma kuruluşları ile paylaşabilir. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda açıklanmayacaktır.

Eğer onayınızdan vazgeçerseniz, çalışma verileriniz artık kullanılmayacak ya da diğer kişilerle paylaşılmayacaktır. Bu formu imzalayarak, çalışma verilerinizin bu formda tanımlandığı şekilde kullanımına onay vermekteyim.

GÖNÜLLÜ KATILIM

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğim veya katıldıktan sonra istediğim zaman, bu tedavi kurumunda göreceğim bakım ve tedaviler etkilenmeksizin ve hiçbir sorumluluk almadan ayrılabileceğim bilincindeyim.

ÇALIŞMADAN AYRILMAMI GEREKTİRECEK DURUMLAR:

Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışmadan çıkmanız halinde bu tedavi kurumunda göreceğiniz bakım ve tedaviler etkilenmeyecek, herhangi bir aksama olmayacaktır.

Ek 2. (Devamı)

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler bana derhal iletilecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı

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

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

Gönüllünün;

Adı Soyadı
Tarih

İmzası

Açıklamaları Yapan Kişinin;

Adı-Soyadı: Melek YÜCE
Görevi: Doktora öğrencisi
Adresi: OMÜ, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.
Tel: 0505 5406127

İmza

Tarih

EK 3. Anket Formu

Tıbbi Biyoloji AD Moleküler Genetik Laboratuvarı Ailesel Akdeniz Ateşi Hasta Bilgi Formu

Hastanın Adı ve Soyadı:

Dosya No:

Adresi:

Telefon:

Yaşı ve Cinsiyeti:

Doğum Yeri ve Yılı:

Sevk Edildiği Bölüm:

Ateş sıklığı:

Ateş süresi:

Soğuğa maruz kaldıktan sonar ortaya çıkan kısa süreli (24 saat) ateş (CAPS)	1-3 gün süren ateş (FMF)	3-6 gün süren ateş (PFAPA)	3-7 gün süren ateş (MKD)	7 günden fazla 2-3 hafta süren ateş (TRAPS)

Karın ağrısı süresi ve sıklığı:

Göğüs ağrısı süresi ve sıklığı:

İlk semptom (belirti) yaşı:

İlk teşhis yaşı:

Sigara kullanıyormu?:

Kaç yıldır kullanıyor:

Günde kaç tane:

- + - Kas ağrısı:
- + - Amiloidoz
- + - Ağızda aftlar
- + - Lenfadenopati /Lenf bezilerinin şişmesi
- + - Apandisit ameliyatı
- + - Safra kesesi ameliyatı
- + - Fıtık ameliyatı
- + - Kolşisin kullanımı
- + - Kolşisine cevap
- + - Ailede benzer şikayetleri olan var mı
- + - Ailede tanı konulmuş FMF (AAA) hastası var mı
- + - Göğüsde nefes darlığı / solunum zorluğu
- + - Omuz hareketinde ağrı durumu
- + - Eklem ağrısı
- + - Bacak eklemlerinde tek taraflı ağrı (tek bacakta ve tek eklemde)
- + - Kurdeşen, ürtiker olarak da adlandırılır; genellikle allerjik bir reaksiyonun göstergesi olan deride kabarıklık yapmış kaşıntılı bölge

EK 3. (Devamı)

- + - Deride erizipel benzeri kızarıklık.
- + - Testislerin inflamasyonu (kızarıklığı yada ağrılı durumu)
- + - Hassaslaşmış karın
- + - Karın spazmı/karın kasılması/gerilmesi
- + - Karındaki organların korunması amacıyla karın duvarı kaslarının kasılması/gerilmesi.
- + - Karın şişkinliği
- + - Dalak büyümesi / büyük dalak
- + - Göğüs kafesi hassasiyeti.
- + - Eklem yerlerinde eklemle sınırlı şişkinlik
- + - Eklem yerlerinde eklemle sınırlı kızarıklık
- + - Geçici peritonit / karın zarı iltihabı
- + - Periton kanlanması /karın zarı kanlanması
- + - Kanda nötrofil sayısında artma.
- + - Anemi / kansızlık
- + - Diz altında ağrılı deri yaraları
- + - Diz altında kırmızı renkte deri yaraları
- + - Diz altında şişkin deri yaraları
- + - Ankilozan spondilit /Sırt omurlarının bozulması:
- + - Behçet hastalığı:
- + - Romatoid artrit (fmf)
- + - Baş ağrısı
- + - Genel halsizlik
- + - Konjanktivit (Göz ağrısı kızarıklık)
- + - Ateşe eşlik eden şikayetlerde artış
- + - Sağırılık
- + - Mental Reterdasyon
- + - Görme kaybı
- + - Eklem ve kemik deformeleri
- + - Ürtiker benzeri, kaşıntısız ve nadir olarak geçici tarzda döküntü
- + - Ataklar soğuk havaya maruz kaldıktan sonra mı ortaya çıkıyor
- + - Ağrılı veya geçici şişlik şeklinde eklem tutulumu
- + - Eklem de şekil bozukluğu, eklem hareketinin kısıtlanması
- + - Papilödemi (Göz uzmanı muayenesi ile belirlenir)
- + - Gelişim geriliği, ergenlikte gecikme
- + - Epilepsi, menenjit gibi nörolojik bulgular (caps)
- + - 2-3 hafta süren yüksek ateşle beraber karın ağrısı, kusma, ishal
- + - Ağrılı cilt döküntüleri
- + - Konjonktivit veya periorbital şişlik (Gözçevresinde şişlik)
- + - Ateşle birlikte yoğun kas ağrısı
- + - Atak süreleri uzun mu?
- + - Göğüs, kalp ağrısı var mı?
- + - Ciddi kas ağrısı (traps)
- + - Bademcik, kulak arkası ve boyun bölgesinde lenf bezlerinde şişme (mkd)
- + - Ateş atakları ile beraber titreme

EK 3. (Devamı)

- + - Ateş yüksek olmasına rağmen genel durumun çoğunlukla iyi olması
 - + - Farenjit var mı?
 - + - Dudak ve diş etinde aft benzeri, beyaz olan etrafı kırmızı lezyonlar
 - + - Ateş, ateş düşürücü ve antibiyotik tedavisine yanıtız mı? (pfapa)
-



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Melek (Önder)YÜCE

Doğum Yeri: SAMSUN

Doğum Tarihi: 15/03/1977

Medeni Hali: Evli ve bir çocuk sahibi

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Doktora: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD (2009-)

Bilimsel Hazırlık Programı: Ondokuz Mayıs Üniversitesi (2008-2009)

Yüksek Lisans: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Mikrobiyoloji BD.(2000-2003)

Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (1994-1999)

Lise: Samsun Ondokuz Mayıs Lisesi (1991-1994)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

1999-2000: Ücretli İngilizce Öğretmenliği/ SAMSUN

2000-2003: Biyoloji Öğretmenliği /ANKARA (Yüksek Lisans Eğitimi Esnasında)

2003-2007: Biyoloji Öğretmenliği /SAMSUN

2008-2010: Biyolog Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD.

2011- : Araştırma Görevlisi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

E-posta: melekonderyuce@hotmail.com