

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VAN VE ÇEVRESİNDEKİ ÇOCUKLARDA AİLESEL
AKDENİZ ATEŞİ GEN MUTASYONLARININ SIKLIĞI ve
PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLERLE İLİŞKİSİ**

Dr. Ruşen KÖÇEROĞLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU

VAN-2011

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VAN VE ÇEVRESİNDEKİ ÇOCUKLARDA AİLESEL
AKDENİZ ATEŞİ GEN MUTASYONLARININ SIKLIĞI ve
PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Ruşen KÖÇEROĞLU
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU**

**“Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
(BAPB) tarafından 2010-TF-U079 numaralı proje olarak desteklenmiştir.”**

VAN-2011

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IV
TABLolar.....	VI
ŞEKİLLER.....	VII
1.ÖNSÖZ.....	VIII
2. ÖZET.....	IX
3. SUMMARY.....	X
4. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
5. GENEL BİLGİLER.....	2
5.1. Ailesel Akdeniz Ateşi.....	2
5.1.1. Tanımı.....	2
5.1.2. Tarihçesi.....	2
5.1.3. Epidemiyoloji.....	3
5.1.4. Klinik.....	3
5.1.4.1. Ateş.....	4
5.1.4.2. Karın ağrısı.....	4
5.1.4.3. Göğüs ağrısı.....	4
5.1.4.4. Eklem ağrısı.....	4
5.1.4.5. Cilt bulguları.....	5
5.1.4.6. Vaskülit.....	5
5.1.4.7. Kas bulguları.....	5
5.1.4.8. Amiloidoz.....	5
5.1.5. Laboratuvar.....	5
5.1.6. Tanı.....	6

5.1.7. Ayırıcı tanı.....	8
5.1.8. Tedavi.....	8
5.1.9. MEFV geni ve mutasyonları.....	10
5.1.10. Patogenez.....	14
5.2. Sitokinler.....	17
5.2.1. Sitokinlerin sınıflandırılması.....	19
5.2.2 Sitokinlerin yapısı.....	21
5.2.3. Tümör nekrozis faktör (TNF).....	21
5.2.4. İnterlökin-1 (IL-1).....	23
5.2.5. İnterlökin-6 (IL-6).....	26
5.2.6. İnterlökin-8 (IL-8).....	27
5.2.7. İnterlökin-10 (IL-10).....	29
5.3. C-Reaktif Protein (CRP).....	31
6. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
6.1. Gereç.....	33
6.1.1.Vaka seçimi.....	33
6.1.2. Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması.....	33
6.1.3. Kullanılan cihaz, kimyasal ve kitler.....	34
6.2. Yöntem.....	35
6.2.1. MEFV gen mutasyonu tayini	35
6.2.1.1. DNA izolasyonu	35
6.2.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu	35
6.2.1.3. Agaroz jel elektroforezi	36
6.2.1.4. Revers-hibridizasyon	36

6.2.1.5. Striplerin değerlendirilmesi	37
6.2.2. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-10 tayini	39
6.2.3. Hs-CRP tayini	40
6.3. İstatistiksel analiz.....	40
7. BULGULAR.....	41
7.1. Mutasyon dağılımları.....	41
7.2. Sitokinler ve CRP'ye ait bulgular	43
8. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	46
9. KAYNAKLAR.....	55
10. ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AAA (FMF):** Ailesel Akdeniz Ateşi (Familial Mediterranean Fever)
- TNF:** Tümör nekrotizan faktör
- IL:** İnterlökin
- CRP:** C-Reaktif protein
- MEFV geni:** Akdeniz Ateşi (Mediterranean Fever) geni
- AFR:** Akut faz reaktanları
- SAA:** Serum amiloid A
- C3:** Kompleman 3
- C4:** Kompleman 4
- C5a:** Kompleman 5a
- PYD:** Pirin
- CC:** Sarmallanmış sarmal (coiled-coil)
- IFN:** İnterferon
- SSCP:** Tek zincir konformasyon polimorfizmi
- RFLP:** Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism)
- PZR-RFLP:** Polimeraz zincir reaksiyonu-Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
- DGGE:** Denatüre edici jel elektroforezi (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)
- CYP3A4:** Sitokrom P450 3A4
- NIRCA:** İzotopik olmayan Rnaz ayrılma yöntemi (Non Isotopic Rnase Cleavage Assay)
- ICAM-1:** İnterselüler adezyon molekülü (Intercellular Adhesion Molecule)
- MHC:** Major histokompatibilite kompleksi (Major histocompatibility complex)
- ASC:** Apoptosisle ilişkili CARD içeren speck protein (Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)
- CARD:** Kaspaz toplayıcı alan (Caspase-recruitment domain)
- APC:** Antijen sunan hücre (Antigen presenting cell)
- ICE:** İnterlökin-1 β yarıklayıcı enzim
- kDa:** Kilo dalton
- RANTES:** Aktivasyonla regüle edilen, normal T hücresi ekspresyonu ve sekresyonu (Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted)
- MCP:** Monosit kemoatraktan protein

MIP: Makrofaj enflamatuvar proteinler
G-CSF: Granülosit-Koloni stimülan faktör
GM-CSF: Granülosit Makrofaj-Koloni stimüle edici faktör
M-CSF: Makrofaj-Koloni stimüle edici faktör
G-CSF: Granülosit-Koloni stimüle edici faktör
CNTF: Siliar nörotropik faktör (Ciliary neurotrophic factor)
TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü- β
LPS: Lipopolisakkarit
TNFR: Tümör nekrotizan faktör reseptörü
TACE: TNF- α dönüştüren enzim
VCAM: Damar hücresi adezyon moekülü (vascular cell adhesion molecule)
MMPs: Metalloproteazların
ACTH: Adrenokortikotropik hormon
TSH: Tiroid stimülan hormon
FSH: Folikül stimülan hormon
GH: Büyüme hormonu
PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü (Platelet derivated growth faktör)
MAPK: Mitojenin aktive ettiği protein kinaz (mitogen-activated protein kinase)
HsCRP: Yüksek duyarlıklı C-reaktif protein
Th hücresi: Yardımcı T hücresi (T hepler hücresi)

TABLULAR

Tablo 1. AAA'nın ayırıcı tanısı	9
Tablo 2. Çeşitli etnik gruplarda ve çeşitli ülkelerde en sık izlenen mutasyonlar	12
Tablo 3. Hormon ve sitokin arasındaki farklılıklar	18
Tablo 4. Bazı sitokinlerin molekül ağırlıkları, hücre kaynakları, hedef hücreleri ve fonksiyonları	20
Tablo 5. TNF- α 'nın bazı biyolojik etkileri	24
Tablo 6. Çalışılan AAA mutasyonları	33
Tablo 7. Hastaların genotip dağılımları	42
Tablo 8. Tespit edilen mutant allellerin dağılımı	43
Tablo 9. Çalışılan parametreler açısından grupların karşılaştırılması	44
Tablo 10. Aktif grupta parametreler arasındaki korelasyonlar	45
Tablo 11. Pasif grupta parametreler arasındaki korelasyonlar	45
Tablo 12. Kontrol grubunda parametreler arasındaki korelasyonlar	45
Tablo 13. Türkiye'de çeşitli çalışmalarda MEFV mutasyonları sıklıkları (% allel) ...	47
Tablo 14. Çeşitli Akdeniz toplumlarında MEFV mutasyonları sıklıkları (% allel)	49

ŞEKİLLER

Şekil 1. AAA'nın nispeten yaygın olduğu ülkeleri gösteren dünya haritası	3
Şekil 2. MEFV geni lokalizasyonu	10
Şekil 3. Pirin (marenostri) proteininin şematik gösterimi	11
Şekil 4. AAA gen mutasyonlarının tipleri/nitelikleri	12
Şekil 5. MEFV geni mutasyonları ve buldukları eksonlar	13
Şekil 6. ASC aracılıklı kaspaz-1 oligomerizasyonunda pirinin rolü	16
Şekil 7. Pirin ve kaspazın etkileşim modeli	16
Şekil 8. Kemokinlerin biyolojik rolleri	29
Şekil 9. Araştırmada kullanılan stripin genel görünüşü, mutasyon ve yabancı tip gen bölgelerinin strip üzerindeki yerleşimleri	38
Şekil 10. Revers hibridizasyonda genotiplendirme	39
Şekil 11. Çalışmada saptanan bazı mutasyon tipleri	39
Şekil 12. Tüm hastalarda çalışılan mutasyonların % dağılımları	41
Şekil 13. Mutasyon saptanan hastaların % dağılımları	42

1. ÖNSÖZ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmam sırasında bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M.Ramazan ŞEKEROĞLU'na başta olmak üzere, eğitimim süresince katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Haluk DÜLGER'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ragıp BALAHOROĞLU'na, tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen İstatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Sıddık KESKİN'e, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Cihangir AKGÜN'e, ölçüm çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Suat SÖNMEZ, Sinan ENTERİLİ ve Ahmet DÖNDER'e, verdiği destekten dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na, eğitim süremi paylaştığım çalışma arkadaşlarıma ve Biyokimya laboratuvarının tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca ihtisas sürem boyunca bana her zaman destek olan, gösterdiği anlayış ve sabır için değerli eşim Deniz'e, varlıklarıyla hayatıma renk ve anlam katan kızlarım Narin ve Şevin'e ve çok değerli aileme sonsuz teşekkürler...

Dr. Ruşen KÖÇEROĞLU

2. ÖZET

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) otozomal resesif bir hastalık olup, periyodik karın ağrısı, ateş ve eklem ağrısına yol açan seröz membranların tekrarlayan inflamatuvar ataklarıyla karakterizedir. MEFV genindeki mutasyonların hastalıktan sorumlu olduğu gösterilmişse de hastalığın fizyopatolojisi bilinenden daha karmaşık görünmektedir. Hastalığın patogenezinde çeşitli sitokinlerin de rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmada AAA tanısı alan çocuklarda MEFV geninin 12 mutasyon açısından taranması ve hastalığın aktif ve pasif dönemlerinde sitokin düzeylerinin kontrollerle karşılaştırılarak hastalığın gelişiminde sitokinlerin rolünün değerlendirilmesi amaçlandı. Bu amaçla 5-15 yaşlarında 157 hasta çalışmaya alındı. Hastalar klinik bulgularına göre aktif (n=81) ve pasif (n=76) grup olarak ikiye ayrıldı. Ayrıca kontrol grubu olarak 30 çocuk çalışmaya alındı. Hastalarda revers hibridizasyon analizi ile MEFV gen mutasyonları incelendi. Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ve CRP düzeyleri ölçüldü. Hastaların %42,7'sinde heterozigot, %11,5'inde birleşik heterozigot ve %12,7'sinde homozigot olmak üzere toplam %66,87'sinde mutasyon saptandı. E148Q heterozigot (%22,92), M694V homozigot (%10,82) ve M694V heterozigot (%8,28) mutasyonları en sık izlenen mutasyonlardı. En sık tespit edilen alleller ise M694V (%40,0), E148Q (%32,41) ve V726A (%11,72) idi. Ayrıca IL-1 β seviyeleri aktif grupta kontrol grubundan yüksek bulunurken, IL-8, TNF- α ve CRP seviyeleri hem aktif hem de pasif grupta kontrollerden daha yüksekti (p<0,05). IL-6 seviyeleri ise hem aktif hem de pasif grupta kontrol grubundan yüksekken aynı zamanda aktif grubun seviyesi pasif gruptan da anlamlı olarak daha yüksekti (p<0,001). Bu çalışmanın sonuçları AAA'lı hastalarda MEFV gen mutasyonundaki heterojeniteyi desteklemiş ve hastalarımızın geniş bir mutasyon yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, başta IL-6 olmak üzere IL-8, TNF- α ve CRP düzeylerinin akut atak tanısı ve tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Yine pasif dönemde artmış sitokin düzeyleri bu hastalarda subklinik inflamasyonun devam ettiği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar Sözcükler: Ailesel Akdeniz Ateşi, MEFV gen mutasyonları, sitokinler.

3. SUMMARY

Incidence of familial mediterranean fever (FMF) gene mutations in children in Van region and its relationship with proinflammatory cytokines

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive disease, and it is characterized by recurrent inflammatory attacks of the serous membranes which cause periodic abdominal pain, fever and joint pain. Even if the mutations in the gene of MEFV have been shown to be responsible for the disease, the pathophysiology of the disease seems more complex than it has been known. It has been considered that various cytokines have also played a role in the pathogenesis of the disease. The aim of this study was to screen MEFV gene for 12 mutations in children with FMF diagnosis and to evaluate the role of cytokines in the development of the disease by comparing cytokine levels in controls and in active and passive periods of the disease. The study included 157 patients aged 5-15 years. The patients were divided into two groups as active (n = 81) and passive (n = 76) according to their clinical findings. In addition, 30 children were included in the study as a control group. Mutations of MEFV gene in patients were examined by analysis of reverse hybridization. In addition, the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α and CRP were measured both in patient and control groups. A total of 66,87% of the patients had mutation, of which 42,7% had heterozygous, 11,5% compound heterozygous and 12,7% homozygous mutations. The most frequently observed mutations were E148Q heterozygous (22,92%), M694V homozygous (10,82%) and M694V heterozygous (8,28%). The alleles which were most detected were M694V (40,0%), E148Q (32,41%) and V726A (11,72%). Furthermore, while the level of IL-1 β in the active group was found higher than that of the control group, the levels of IL-8, TNF- α and CRP were higher both in the active and in the passive group than those the controls (p <0.05). While the levels of IL-6 both in the active and in the passive group were higher than those of the control group, the level of active group was also significantly higher than that of the passive group (p <0,001). The results of this study have supported the heterogeneity of the mutation of MEFV gene in patients with FMF and have shown that our patients have a wide range of mutations. In addition, it is thought that, the levels of IL-8, TNF- α , CRP and especially IL-6 could be used in the diagnosis of acute attack and monitoring the response to the treatment. However, increased cytokine levels in the passive period have supported the view that the subclinical inflammation has continued in these patients.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, the mutations of MEFV gene, cytokines.

4. GİRİŞ VE AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, Familial Mediterranean Fever: FMF); tekrarlayıcı, otozomal resesif geçişli, seröz membranların inflamasyonu sonucu ortaya çıkan karın, göğüs ve eklem ağrılarında ateşin eşlik ettiği bir hastalıktır. AAA Doğu Akdeniz kökenli topluluklarda özellikle Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar'da sık görülür. Hastalığın prevalansı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5 gibi yüksek değerlerdedir (1).

AAA'ya yol açan gen ilk kez 1997 yılında iki ayrı grup tarafından klonlanmıştır. Uluslararası FMF Konsorsiyum'u ve Fransız FMF Konsorsiyum'u 16. kromozomun kısa kolu 16p13.3'de 781 aminoasitten oluşan pirin/marenostrin adı verilen proteini kodlayan genin AAA hastalığı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. AAA gelişiminden sorumlu tutulan bu gen **M**editerranean **F**e**V**er (MEFV) geni olarak adlandırılmıştır. Her iki araştırma grubu M694V, M694I, M680I ve V726A mutasyonlarının hastaların %85'inde mevcut olduğunu göstermişlerdir (2,3).

Yapılan çeşitli çalışmalarda hastalığın hem aktif hem de pasif dönemlerinde sitokin düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Yine bazı hastalarda akut faz reaktanlarının sadece ataklar sırasında değil, atak aralarında da yüksek seyrettiği gözlenmiş ve sonuç olarak asemptomatik dönemde de sublinik bir inflamasyonun devam ettiği ileri sürülmüştür (4,5).

Türkiye'de çeşitli bölgelerde AAA mutasyon tiplendirmesi ve taşıyıcılık sıklığı üzerine çalışmalar yapılmış ve mutasyon sıklıkları bakımından bazı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada YYÜ Tıp Fakültesi Hastanesine AAA tanısı ile başvuran çocukların, MEFV geninin 12 mutasyonu açısından taranarak tekli veya birleşik mutasyonların oranlarının saptanması ve mutant bireyler içindeki homozigot ve heterozigot oranının tespiti amaçlanmıştır. Ayrıca hastalığın aktif ve pasif dönemlerinde proinflamatuvar sitokin ve akut faz reaktanlarından CRP düzeylerinin hem kendi aralarında hem de kontrol grubu ile karşılaştırılarak hastalığın gelişiminde sitokinlerin rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

5. GENEL BİLGİLER

5.1. Ailesel Akdeniz Ateşi

5.1.1. Tanımı

Ailevi Akdeniz ateşi (AAA; Familial Mediterranean Fever, FMF) kalıtsal periyodik ateş sendromlarının en yaygın olanıdır (6). AAA, özellikle Akdeniz etrafında yerleşim gösteren Yahudileri, Arapları, Türkleri ve Ermenileri etkiler. Hastalığa dünyanın değişik bölgelerinde de nadir olarak rastlanılır. (7). AAA; otozomal resesif kalıtsımlı, akut, kendini sınırlayan ateş atakları ile karakterize, inflamatuvar bir hastalıktır. Bu ataklara genellikle steril bir peritonit, plörit, mono veya oligo-artiküler artrit ve/veya deri döküntüleri eşlik eder (8).

5.1.2. Tarihçesi

Hastalık ilk kez 1908 yılında Janeway ve Rosenthal tarafından, 16 yaşında, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve lökositozu olan Yahudi bir kızda “paroksizmal bir hastalık” olarak bildirilmiştir. İlk olgudan sonra 1945 yılında Amerikalı araştırmacı Siegal, ‘Benign Paroksizmal Peritonitis’ adı ile tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları ile seyreden bir klinik antite tanımlamıştır. Ortalama bir yıl sonra Türkiye’den ilk rapor bildirilmiştir. 1948 yılında Reiman ‘Periyodik Hastalık’ tanımlamasını kullanmıştır. 1951 yılında ilk kez Catton ve Mamou hastalığın ailevi olduğuna dikkati çekmişler ve 1956 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir (9). Heller ve Sohar 1958 yılında ilk kez Ailevi Akdeniz Ateşi tanımını kullanmışlardır. 1972 yılında kolşisinin hastalık ataklarını ve amiloidozu önlediği gösterilmiştir. AAA’ya yol açan gen ilk kez 1997 yılında iki ayrı grup tarafından klonlanmıştır. Uluslararası AAA Konsorsiyum’u ve Fransız AAA Konsorsiyum’u 16. kromozomun kısa kolu 16p13.3’de bir proteini kodlayan genin AAA hastalığı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. AAA gelişiminden sorumlu tutulan bu gen **ME**diterranean **Fe**Ver (MEFV) geni olarak adlandırılmakta ve ürünü olan proteine Uluslararası Konsorsiyum, ateş (pyrexia) patogenezindeki rolü nedeniyle ‘pyrin’, Fransız Konsorsiyum’u ise ‘marenostin’ (Mare Nostrum, Akdeniz için “Bizim Deniz”) adını vermektedir (1,2,3,10).

5.1.3. Epidemiyoloji

Sefardik Yahudilerinde prevalansın 1/256-1/1000, taşıyıcılık oranının 1/8-16; Doğu Avrupa kökenli Yahudilerde (Ashkenazi) prevalansın 1/73.000, taşıyıcılık oranının 1/135; Ermenilerde prevalansın 1/500, taşıyıcılık oranının 1/7; Türklerde prevalansın 1-3/1000, taşıyıcılık oranının 1/3-5 ve Araplarda prevalansın 1/2600, taşıyıcılık oranının ise 1/50 olduğu görülür. Türklerde taşıyıcılık oranı 1/3-5 olmasına rağmen Türkiye'nin belli bölgelerinden köken alan kişilerde hastalığa daha fazla rastlanılmaktadır. AAA'da taşıyıcılık oranının bu kadar yüksek olması, heterozigotluğun hasta olmayan bu kişilerde Akdeniz Bölgesi'ndeki bir patojene selektif avantaj sağladığı hipotezinin ortaya atılmasına neden olmuştur (11). Şekil 1'de AAA'nın nispeten yaygın olduğu ülkeler gösterilmiştir (12).



Şekil 1: AAA'nın nispeten yaygın olduğu ülkeleri gösteren dünya haritası. Dairelerin ölçüsü, o ülkede AAA yaygınlığı ile orantılıdır. Oklar hastalığın yayılma yollarını gösterir. Kırmızı oklar antik dünyada MEFV mutasyonlarının göçünü göstermektedir. Siyah oklar yeni dünyada hastalığın göçünü ifade ederken sarı ok ipek yoluna karşılık gelir (12).

5.1.4. Klinik

Hastalık ateşli, ağrılı ataklarla karakterize olup 38,5-40°C arasındaki yüksek ateşe, periton, plevra ya da sinovyum seröz membranlarından birinde oluşan inflamasyonun neden olduğu ciddi karın, göğüs veya alt ekstremitenin geniş eklemlerinden birinin ağrısı eşlik eder. Hastalar genellikle atakları başlatan bir etken tarif etmezler ancak AAA

ataklarının bazı hastalarda menstruasyon, duygusal stres veya ağır fiziksel aktivite dönemlerine rastladığı görülür (13).

Ataklar ortalama olarak 12-96 saat sürer. Atak sıklığı haftada birden 3-4 ayda bire kadar değişebilir. Akut epizotlar arasında hastalar genellikle asemptomatiktir ve rutin laboratuvar testleri esas itibariyle normaldir (10,14).

5.1.4.1. Ateş

Hemen her hastada görülür, atakla birlikte ateş 38-40°C kadar yükselir, 12-72 saat kadar devam eder. Hastaların çoğu ateşin varlığını fark etmeyebilir. Bununla birlikte kolşisin kullanan hastalarda da ateşte belirgin bir yükselme gözlenmeyebilir (15).

5.1.4.2. Karın ağrısı

Karın ağrısı atakları genellikle hastaların yaklaşık %90 kadarında görülen en yaygın semptomdur. Hastaların %50 sinde AAA'nın ilk semptomudur. AAA hastalarının neredeyse %50'si akut karın nedeniyle atak anında opere edilmiştir (1). Genellikle aniden ortaya çıkan, bir kadranda başlayıp bütün batına yayılan ağrı şeklindedir. Ağrının şiddeti, hafif bir sancıdan akut karın tablosuna kadar değişen düzeylerde olabilir. Karın ağrısı ateşten önce görülür ve ateş normale döndükten sonra 1-2 gün süreyle devam eder. Lokalize olabilir ve apandisit veya kolesistiti taklit edebilir (15).

5.1.4.3. Göğüs ağrısı

AAA hastalarının % 31-87'sinde görülebilmektedir (1). Bu tek taraflı febril plörit de tıpkı peritoneal ataklar gibi ani başlangıçlı ve önceden belirlenemeyen tekrarlarla seyrettiğinden akut bir tablo zannedilebilir. Sıklıkla daha uzun süren infeksiyöz plöritten hızlı bir şekilde düzelmesi ile ayırt edilebilir. Nefes alıp verirken ağrı olur ve etkilenen tarafta solunum sesleri azalır. Kostofrenik sinüsteki az miktardaki eksuda radyolojik olarak gösterilebilir. Bu eksuda çok sayıda nötrofil içerip 48 saat içinde geriler (16).

5.1.4.4. Eklem ağrısı

Eklem atakları, AAA'nın önemli bir özelliğidir ve sık (%75) görülür. Ataklar küçük travmalar veya uzun süreli egzersizlerle tetiklenebilir. AAA'da görülen klasik eklem

tutulumu akut monoartrit şeklinde olup genellikle alt ekstremitelerin büyük eklemleri (ayak bileği, diz, kalça) tutulur. Eşlik eden ateş birkaç gün, en fazla bir ay sürer ve kendiliğinden düzelir. Hastalardan alınan sinovyal sıvı örneği bulanık, viskozitesi azalmış ve nötrofilce zengindir. Gram boyama ve kültür sonuçları negatiftir (17,18).

5.1.4.5. Cilt bulguları

Hastaların %3-46'sında, sıklıkla diz ve ayak bileği arasındaki deri bölgesinde lokalize, bazen de ayak sırtı üzerinde, erizipel benzeri kızarıklık gözlenir. AAA için oldukça tipik olan bu lezyona çoğunlukla ateş ve artrit eşlik eder. Semptomlar sıklıkla 24-48 saat sürer (10).

5.1.4.6. Vaskülit

Vaskülit türlerinden Henoch Schönlein Purpurası ve Poliarteritis Nodosa, AAA hastalarında daha sık görülmektedir (1,10).

5.1.4.7. Kas bulguları

AAA'da çeşitli sebeplere bağlı olarak kas tutulumu olabilir. Kısa veya uzun süreli kas ağrısı, egzersize bağlı baldır ağrısı, kolşisin miyopatisi başlıca sebeplerdir. Ateş ve hastanın subjektif şikayetlerini destekleyecek fiziksel veya laboratuvar bulgusu yoktur. Kas tutulumu % 30-40 ortaya çıkabilir (18).

5.1.4.8. Amiloidoz

AAA hastalığının bir diğer özelliği, hastaların önemli bir kısmında sekonder (AA-amiloid assosiye- tipi) amiloidoza neden olabilmesidir. Amiloidoz gelişme sıklığı etnik farklılık göstermektedir. Türklerde amiloidoz gelişimi diğer etnik gruplara göre oldukça yüksektir (19).

5.1.5. Laboratuvar

Bir çok laboratuvar testi olmasına rağmen, AAA için spesifik bir laboratuvar testi yoktur (15). Ataklar sırasında, lökositoz, periferik yaymada sola kayma, eritrosit sedimentasyon hızı ve akut faz reaktanları (AFR)'nda artış önemli bulgulardır. AFR;

C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), fibrinojen, haptoglobulin, C3, C4'dur. Akut atak sırasında renal amiloidoz olmaksızın albuminüri veya hematüri görülebilir (20). Bazı hastalarda bu akut faz reaktanları sadece ataklar sırasında değil, atak aralarında, asemptomatik dönemde de yüksek seyretmeye devam edebilir. Çünkü asemptomatik dönemde de devam eden subklinik bir inflamasyon mevcuttur (5).

AAA hastalarında, SAA ölçümleri düzenli olarak kontrol edilmelidir. SAA değerinin, 1000 mg/ml'den daha yüksek bulunduğu başka bir hastalık olmadığı için, SAA artış düzeyi, asemptomatik hastalarda tanı koymaya yardımcı olur. Asemptomatik hastalarda, akut faz yanıtı sırasında gözlenen SAA değerleri, amiloidoz gelişim yatkınlığının belirlenmesi ve ilaç tedavisi düzenlenmesi açısından da faydalıdır (21). Amiloidoz, her hastada ortaya çıkmamaktadır. AAA hastalarında, AA amiloidoz gelişimi için üç genetik faktör belirlenmiştir. Bunlardan birincisi, MEFV genotipidir. Homozigot M694V mutasyonu taşıyanlarda, hastalık başlangıç yaşı, atak sıklığı ve amiloidoza yatkınlık açısından, daha ağır bir tablo gözlenmektedir. İkinci risk faktörü, erkek cinsiyetidir. Üçüncü faktör ise SAA1 genotipi olup, SAA1.1 homozigotluğu, güçlü bir risk belirleyicisidir. AAA'nın II. fenotipik görünümü kabul edilen, ataklar olmaksızın, hastalığın amiloidoz tablosuyla ortaya çıkışı, ataklar arası dönemde tipik olarak CRP ve SAA düzeylerinde artıştan anlaşılabilceği gibi, subklinik inflamasyona bağlanabilir (6).

Yapılan bir çalışmada hastaların eklem ve sıvı örneklerinde C5a inhibitör aktivitesi saptanmamıştır (22). Proinflamasyon sitokinleri olan IL-17 ve IL-18 düzeyleri de AAA atakları sırasında artmaktadır (5). AAA hastalarında interferon-gama (IFN- γ) düzeyi normal bireylere göre daha yüksektir, ayrıca AAA atakları boyunca anlamlı derecede artmaktadır (23).

5.1.6. Tanı

AAA tanısı, büyük ölçüde klinik değerlendirmelere göre konulmaktadır. Sıklıkla Tel Hashomer grubunun önerdiği tanı kriterleri kullanılmaktadır (24).

Tel Hashomer kriterleri;

(Kesin tanı = 2 major veya 1 major + 2 minör; Olası tanı = 1 major + 1 minör)

Kriterler	Klinik bulgular
Major kriterler	1- Peritonit, sinovit veya plöritin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları 2- Kolaylaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidoz olması 3- Kolşisin tedavisine iyi yanıt
Minör kriterler	1- Tekrarlayan ateşli ataklar 2- Erizipel benzeri eritem 3- Birinci derece akrabalarda AAA olması

Livneh ve Ark. (25,26) kolşisinin minör bir bulgu olarak yer aldığı ve Tell-Hashomer kriterlerine göre daha kapsamlı bir tanı kriteri seti oluşturmuşlardır. Livneh ve Ark.'nın önerdiği AAA tanı kriterleri majör kriterler, minör kriterler ve destekleyici kriterlerden meydana gelmektedir:

Livneh ve ark.'nın major AAA kriterleri;

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

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

Livneh ve Ark.'nın minör AAA kriterleri;

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

Livneh ve Ark.'nın destekleyici AAA kriterler;

- 1- Ailede FMF öyküsü,

- 2- Etnik köken,
- 3- Atakların 20 yaşından önce başlaması,
- 4- Atağın ciddi yatak istirahati gerektirmesi,
- 5- Atakların kendiliğinden geçmesi,
- 6- Ataklar arası semptom olmaması,
- 7- Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri,
- 8- Gereksiz laparotomi veya apendektomi hikâyesi,
- 9- Akraba evliliği.

Livneh ve Ark.'nın öne sürdüğü tanı kriterlerine göre kesin tanı için 1 majör kriter, en az 2 minör kriter, 1 minör ve 5 destekleyici kriter veya 1 minör ve destekleyici kriterlerden ilk dördü seçeneklerinden biri gerekmektedir (25,26).

AAA'nın genetik tanısında tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP), revers-hibridizasyon esasına dayalı testler (strip testler) veya doğrudan dizi analizi gibi yöntemlerden herhangi biri kullanılabilir. Klinik tanı kesinse, genetik tanı ne olursa olsun, tanı değişmemekte ve tedaviye devam edilmektedir. Genetik tanı özellikle klinik tanının şüpheli olduğu durumlarda önemlidir. Aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyon saptanması düşük penetrasyonlu bir mutasyona veya prelinik safhada olan bir hastanın erken saptanmasına bağlı olabilir. Bazı araştırmacılar klinik herhangi bir belirti olmasa da kötü prognozu gösteren M694V mutasyonuna sahip hastaların tedavi edilmesini önerirler (17).

5.1.7. Ayırıcı Tanı

Bir hastada 2 yıldan daha uzun bir süredir tekrarlayan ateş atakları varsa, bunlara infeksiyon veya malign hastalıkların yol açması çok olası değildir. Bu durumda, kalıtsal periyodik ateş sendromlarına ek olarak juvenil romatoid artrit, erişkin başlangıçlı Still hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, Blau sendromu, Schnitzler sendromu ve Behçet hastalığı gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklar ayırıcı tanıda yer almalıdır. AAA'nın ayırıcı tanısı tablo 1'de özetlenmiştir (27).

5.1.8. Tedavi

Kolşisin 1972 yılında Goldfinger ve Türkiye'den daha geniş hasta grubu içeren Özkan ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmalar ile AAA hastalarında tedavi seçeneği

Tablo 1: AAA'nın ayırıcı tanısı (27)

	Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA)	Mevalonat Kinaz Eksislikleri	Tümör Nekrozis Faktör (TNF)-Reseptör-ilişkili Periyodik Sendrom (TRIPS)	Kriyopirin Hastalıkları
Kalıtım şekli	Otozomal Resesif	Otozomal Resesif	Otozomal Dominant	Otozomal Dominant
Başlangıç Yaşı (yıllar) Atakların Süresi (günler)*	<20	<1	<20	<20
Cilt tutulumu	Erezipel benzeri eritem	4-5 Morbiliform döküntü	>14 Myajli alanını kaplayan migratuvar döküntü	1-2 Ürtiker benzeri lezyonlar
Kas-iskelet tutulumu	Monoartrit yaygın	Artrajli, ara sıra oligoartrit	Şiddetli myajli yaygın; nadiren belirgin monoartrit	Bıçak saplanır gibi ekstremite ağrısı, artrajli yaygın; artrit olabilir
Abdominal tutulum	Steril peritonit yaygın	Splenomegali ve şiddetli ağrı yaygın	Şiddetli ağrı çok yaygın	Epifizeal kemik oluşumu
Göz tutulumu	Nadir	Nadir	Nadir	Hepatosplenomegali
Ayrırt ettirici klinik semptomlar	Erezipel benzeri eritem	Belirgin servikal lenfadenopati	Lenfadenopati olabilir	Konjunktivit, bazen optik sinir eleasyonu
Tutulmuş Gen	MEFV	MVK	TNFRSF1A	CIAS1
Tutulmuş Protein	Pirin (Marenostrin)	Mevalonat Kinaz	Tip 1 TNF-reseptörü	Kriyopirin

*Süre değişebilir, bu tipik süredir

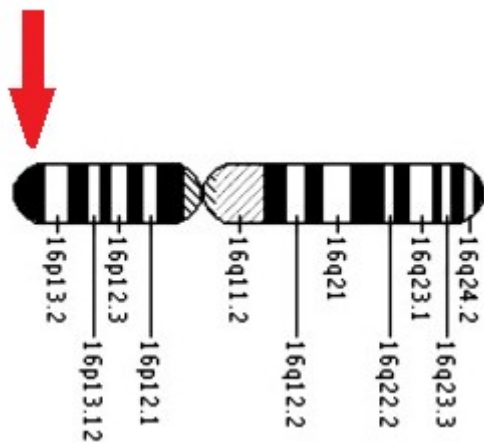
olmuştur (28,29). Kolşisinin doza bağlı olarak değişik etkileri bulunmakla birlikte, sitoplazmada tubuline bağlanarak hücre mikrotübül polimerizasyonunu durdurduğu için hücre iskeleti proteinlerini etkileyerek nötrofil kemotaksisini inhibe eder, amiloidoz gelişimini engeller (30).

Yüksek doz kolşisin, mikrotübüllerin “artı” uçlarında polimerleşmeyi; düşük dozlar ise tübülün değişimini engeller. Mikrotübül dinamiği etkilendiğinde, lökosit göçü baskılanır. Kolşisin, nötrofil ve endotel hücrelerinde, yüzey adezyon moleküllerinin sayı ve dağılımını değiştirerek, lökosit adezyonunu da bozar (31). Çocuklarda kullanılan miktarı 1–2 mg/gündür (1 mg/m²/gün) (15).

Kronik aktif hepatit nedeni ile INF- α tedavisi kullanmakta olan AAA’lı bir hastanın ataklarının kaybolması bu tedavisinin kolşisine dirençli olgularda kullanılabileceğini düşündürmüştür (32).

5.1.9. MEFV geni ve mutasyonları

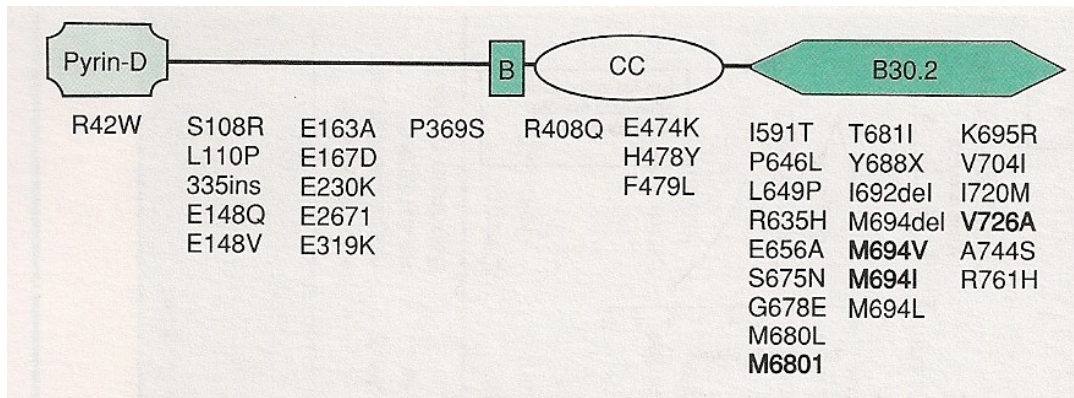
MEFV (**ME**diterranean **Fe**Ver) geni olarak adlandırılan bu gen 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde 10 ekzonluk, 15 kb’lık, 3505 nükleotitten oluşan bir genidir. Aynı anda bulunan genin oluşturduğu proteine Fransız grubu “Marenostrin:Akdeniz”, diğer grup ise “Pirin:Ateş” ismini vermiştir. MEFV geninin 16. kromozomda lokalizasyonu şekil 2’de gösterilmektedir. (33).



Şekil 2: MEFV geni lokalizasyonu. MEFV geni 16. kromozomun kısa kolunun 13.3 bölgesinde, 3.232.028-3.246.627 baz çiftleri arasında lokalize olmuştur (33).

MEFV geni, pirin veya marenostrin olarak bilinen ve mikrotübüllerle birlikte olgun nötrofil ve monositlerden sitoplazmik bir protein olarak salınan 781 aminoasitli bir proteini kodlar. Pirin salınımı interferon- γ (IFN- γ) ve TNF gibi inflamatuvar mediatörlerce indüklenir. Pirin bölgesi apoptoziste ve inflamasyonda yer alan birtakım proteinlerce paylaşılır ve son bölgeler (death domains), son-uyarıcı bölgeler (death-effector domain) ve caspase-rekrütman bölgelerinin yer aldığı altılı heliks demeti son-bölge süperailesinin (six-helix bundle death-domain superfamily) bir üyesidir. Pirin, bir pirin bölgesi içeren diğer proteinlere özgül olarak bağlanır (27).

Pirin proteini 4 farklı domain içerir; N-terminal ucunda yaklaşık 92 amino asitlik PYD/pirin domaini, C-terminalinde B30.2/rfp/SPYD domaini, PYD ve B30.2 rfp/SPYD domainleri arasında sıkışmış B-box ve CC (coiled-coil/sarmallanmış sarmal) segmentleridir. Pirin proteininin şematik gösterimi şekil 3'te yer almaktadır (27).

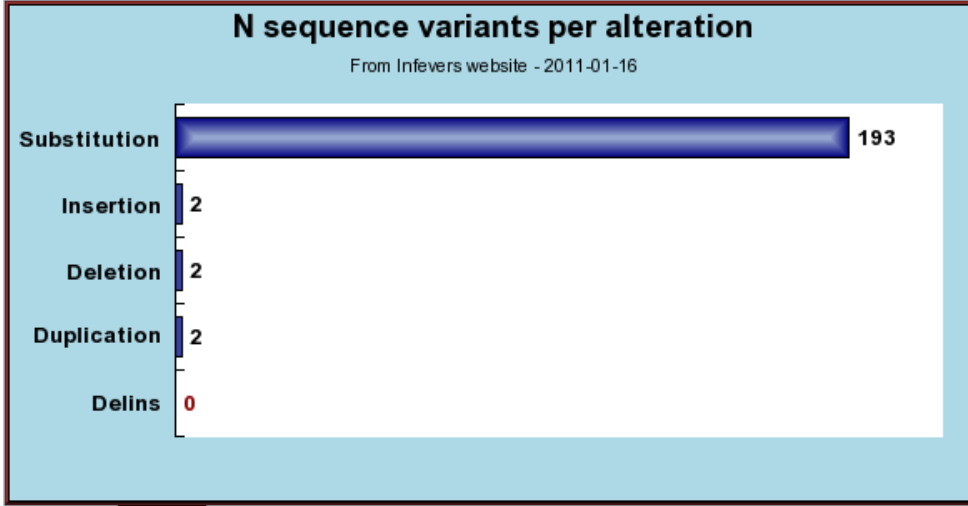


Şekil 3: Pirin (marenostrin) proteininin şematik gösterimi. Siyah harflerle belirtilenler AAA bulunan yaygın yanlış anlamlı mutasyonlardır (27).

Amino ucu mikrotübüllere bağlanır; dolayısıyla karboksil ucundaki B30.2 alanını etkileyen mutasyonlar, bu bağlanmayı etkilemez. Phalloidinle boyandığında, çekirdek etrafında ve çevresel düzlemsel kabarıklıklarda, aktinle beraber yer aldığı görülür (31).

Şekil 4'te gösterildiği gibi AAA'da şimdiye kadar 193'ü substitüsyon (yanlış anlamlı), 2'si insersiyon, 2'si delesyon, 2'si duplikasyon şeklinde olmak üzere 199 mutasyon tanımlanmıştır (34). Mutasyonların çoğu 10, 2, 5 ve 3. eksonlardadır. Şekil 5'de mutasyonlar ve buldukları eksonlar gösterilmiştir (35).

Tüm AAA mutasyonlarının neredeyse % 99'unu oluşturan altı yaygın mutasyon mevcuttur; bunlar M694V (incelenen popülasyona bağlı olarak vakaların % 20-65'inde bulunur), V726A (% 7-35'inde), M680I, M694L V694I ve E148Q'dur. Burada belirtilen ilk



Şekil 4: AAA gen mutasyonlarının tipleri/nitelikleri (34)

üç mutasyon için, en az 2500 yıl öncesinde ortak ataların olduğunu gösteren bir ata etkisi tesbit edilmiştir (27). Tablo 2’de çeşitli etnik gruplarda ve çeşitli ülkelerde en sık izlenen mutasyonlar özetlemiştir (12).

Tablo 2: Çeşitli etnik gruplarda ve çeşitli ülkelerde en sık izlenen mutasyonlar (12)

İsrail	Kuzey Afrika Yahudileri: M694V, E148Q
	Irak Yahudileri: V726A, M694V, E148Q, M680I
	Ashkenazi Yahudileri: E148Q, V726A
Orta Doğu	Araplar: V726A, M680I, M694V, M694I, E148Q
Türkiye	Türkler: M694V, M680I, V726A, E148Q
Ermenistan	Ermeniler: M694V, M680I, V726A, E148Q
Japonya	Japonlar: M694I, [L110P;E148Q], R761H, E84

MEFV allellerinde bulunan mutasyonlara göre üç ayrı fenotip tanımlanmıştır:

1-Fenotip I (Belirgin AAA): Hastalıkla ilgili çoğu belirti, M694V mutasyonu başta olmak üzere, sık rastlanan mutasyonların gözleendiği ve bu mutasyonlar ile klinik tablonun ağırlaşma eğilimi arasında ilişki bulunan hastalar.

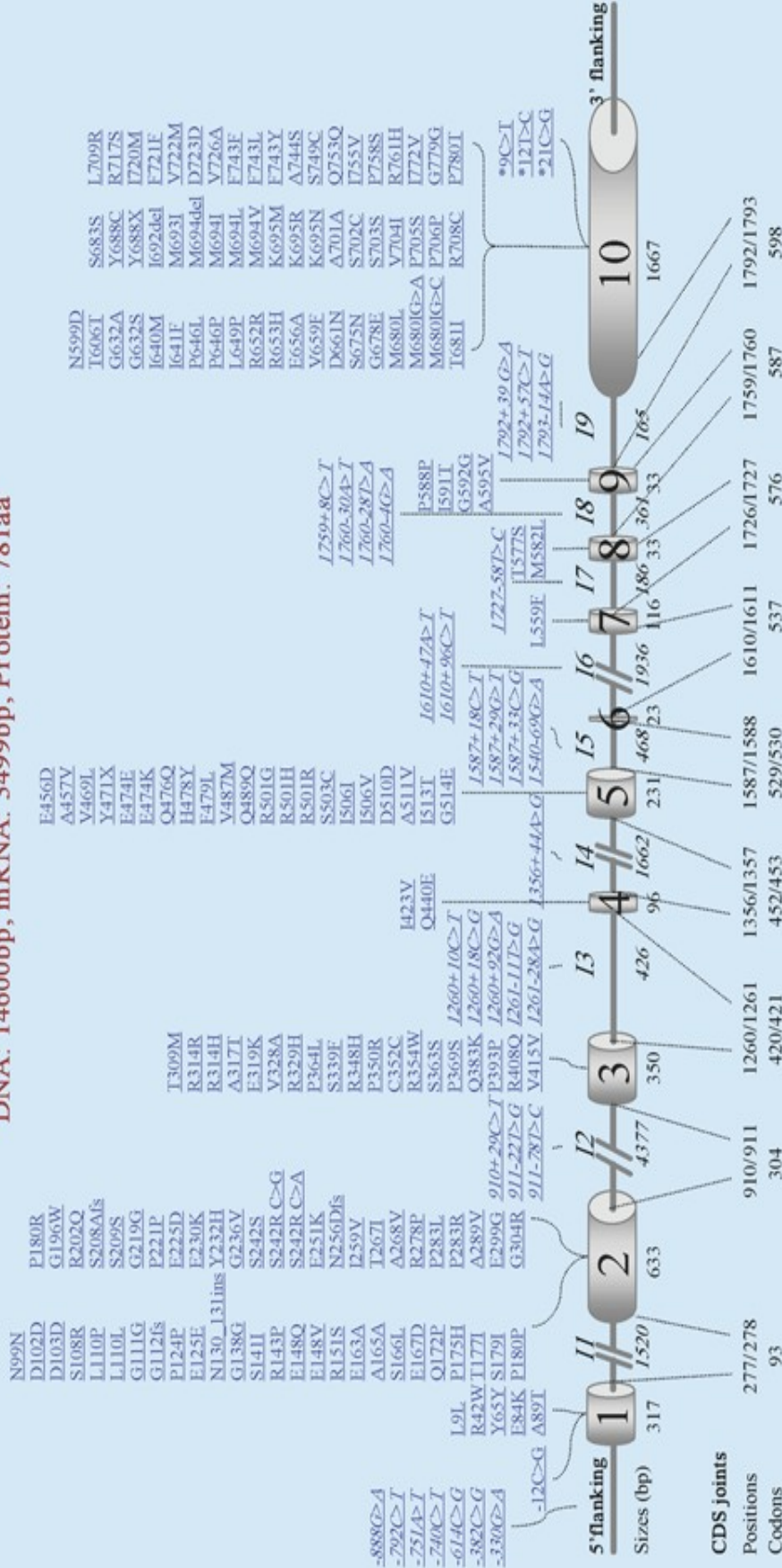
2-Fenotip II (İzole amiloidoz): İlk veya tek belirti olarak amiloidozu bulunan ve M694V mutasyonuna çok sık rastlanan hastalar.

3-Fenotip III (Sub/pre-klinik AAA): Klinik olarak hasta olmayan ancak MEFV mutasyon taşıyıcısı olanlar.

III. fenotip kapsamında çoğunlukla, E148Q ve V726A mutasyonlarına rastlanmaktadır. Bu kategorideki kişiler, diğer iki kategoridekilerden çok daha fazla olup, bu fenotipin ortaya çıkışını etnik köken etkilemektedir (36).

MEFV NM_000243.1 (16p13.3)

DNA: 14600bp, mRNA: 3499bp, Protein: 781aa



Galatasaray
 December 13, 2010
 N Sequence variants: 198

This graph shows the variant usual name (i.e. as first published). Please refer to the variant detail by clicking on its name for possible edited nomenclature.

Şekil 5: MEFV geni mutasyonları ve buldukları eksonlar (35)

E148Q mutasyonu, en sık rastlanan beş mutasyondan biri olup, bazı durumlarda klinikle ilişkisiz bir polimorfizm olarak kabul edilmiştir. Bu mutasyon başka bir mutasyonla birlikte, hastalığın kendini göstermesine neden olabilir (37).

Mutasyon tarama amacıyla bazı yöntemler geliştirilmiştir. MEFV geninin kodlayıcı bölgesi, yaklaşık 2400 bç uzunluğunda ve gözlenen mutasyonlar çok çeşitli olduğu için, tüm gen dizisinin taranması, özellikle sık gözlenen mutasyon profillerinin tanımlanmadığı toplumlarda oldukça zordur. Dolayısıyla, gen analiz yöntemleri, bilinen ve sık gözlenen mutasyonların taranmasıyla sınırlandırılmaktadır. AAA tanısı konduğu halde, PZR-RFLP (Polimeraz Zincir tepkimesi [Reaksiyonu]- Restriksiyon kesim parça uzunluk polimorfizmi [Restriction Fragment Length Polymorphism]) yöntemiyle mutasyon saptanmayan hastalar için geliştirilen izotopik olmayan Rnaz ayrılma yöntemi (NIRCA-NonIsotopic Rnase Cleavage Assay) güvenli, hızlı sonuç veren ve fazla masraflı olmayan alternatif bir yöntemdir. Bu yöntem, riskli etnik gruplara dahil olmayan, dolayısıyla mutasyon yelpazesi bilinmeyen topluluklarda, ilk basamak tarama tekniği olarak kullanılabilir. Rutin kullanımda, sırasıyla 10 ve 2, bunlardan sonuç alınmadığında ise 3 ve 9. eksonlar taranmalıdır (38).

MEFV mutasyonlarının incelenmesi için sıklıkla denatüre edici jel elektroforezi, (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE) ve ters hibridizasyona dayalı yöntemler kullanılmaktadır (39).

5.1.10. Patogenez

Lökosit-endotel yapışması ve dokularda lökosit birikiminin önemli mediyatörlerinden olan IL-8 ile yapışmada yer alan interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in çözümlü formunun, kontroller ile karşılaştırıldığında Türk AAA hastalarında ataklar sırasında anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak ilginç bir bulgu ICAM-1'in remisyonda da yüksek seyretmesidir. Benzeri bulguların akut faz reaktanları için de gösterilmiş olması AAA'nın klinik olarak remisyonda görüldüğü dönemlerde de subklinik inflamasyonun sürdüğünü düşündürmektedir (40).

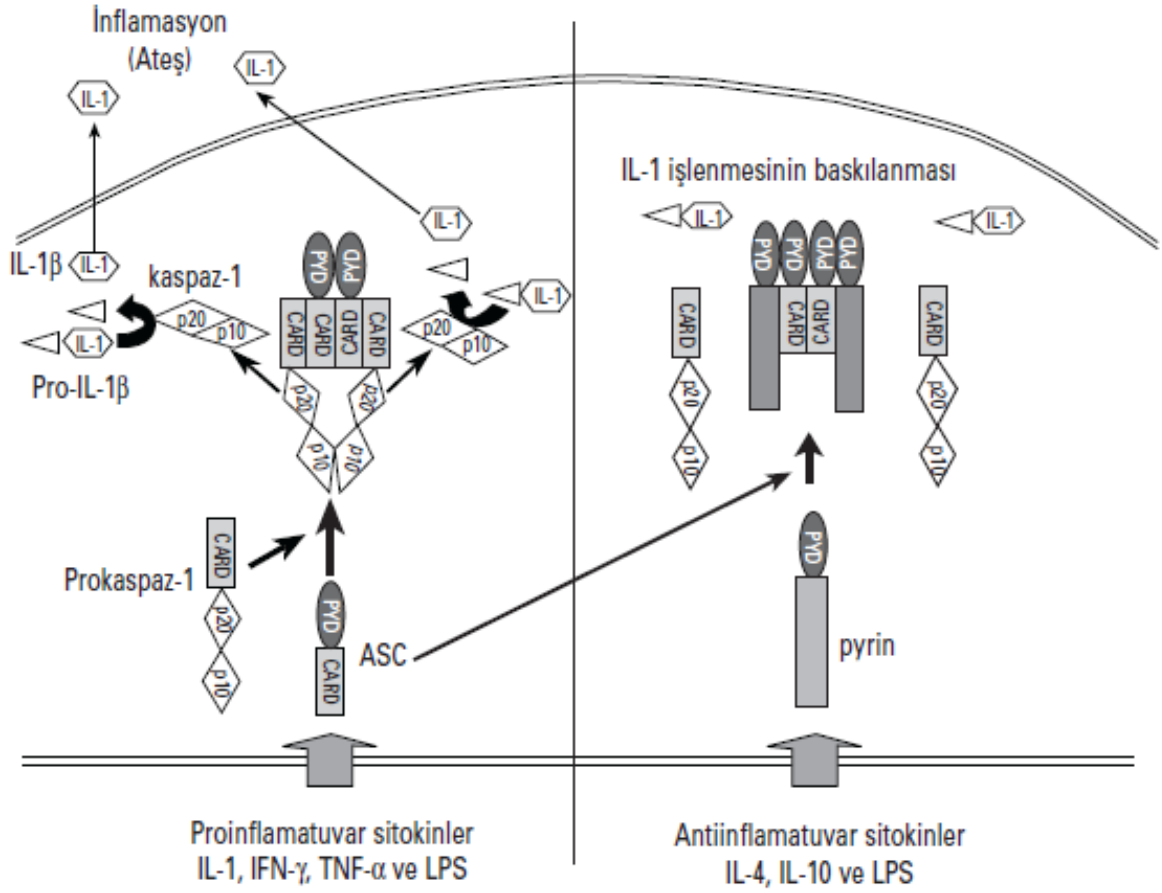
1976 yılında AAA'nın katekolamin metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklanabileceği hipotezi ortaya atılmıştır. Hayashi ve ark. (41) tekrarlayan peritonit atakları olan bir hastanın ataklarının reserpin ile baskılandığını ve noradrenalin infüzyonu ile uyarıldığını göstermiş ve hastalığın patogenezinde katekolamin metabolizmasına dikkat çekmiştir.

Chae ve Ark. (42) pirin-/- mutant farelerde yaptıkları çalışmalarda yabancı-tip pirinin kaspaz-1'in proteolitik aktivasyonunu inhibe ederek IL-1 β parçalanmasını regüle ettiğini ileri sürmüştür. Chae ve Ark.'ın ileri sürdüğü metabolik yolda pirin ASC (Apoptosisle ilişkili CARD içeren speck protein, CARD: kaspaz toplayıcı alan) proteinine bağlanmak için kaspaz-1 ile yarışır. ASC inflamazom olarak adlandırılan kompleksi bir araya getirir. Bu makromoleküler kompleks ön yangı sitokinlerinin varlığında pro-kaspaz-1'i (ICE, IL-1 β yıkılayıcı enzim) aktive eder. Kaspaz-1 IL-1 β 'nın bir bölümünü kırarak ateş ve yangı aracısı olan aktif forma dönüştürür. Pirin bu metabolik yolda yangı önleyici sitokinlerin uyarımı ile ASC'ye bağlanır ve prokaspaz-1'in aktif hale geçmesini ve IL-1 β salınımını engeller. Mutant pirin ASC'ye bağlanamayacağından inflamasyonu engelleyemez. Şekil 6'da pirinin, ASC aracılıklı kaspaz-1 oligomerizasyonunda rolü gösterilmiştir (42).

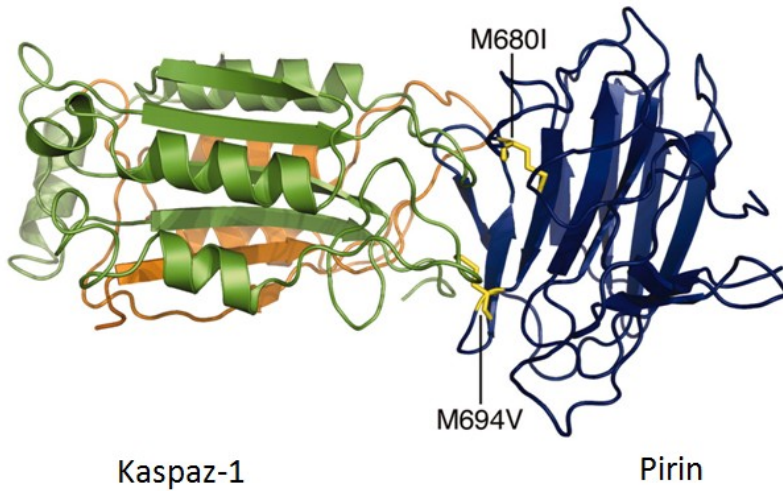
Kaspazlar (sistein içeren, aspartata-özgü proteazlar,/cysteine-containing aspartate-specific proteases-caspase) kalsiyumdan-bağımsız hücre içi sistein proteaz sınıfının en önemli bölümünü oluştururlar (43). Günümüze kadar insan ve farelerde 14 kaspaz tanımlanmış ve bunların 11 ayrı fonksiyonu gösterilmiştir (kaspaz1-14). Kaspazlar biyolojik fonksiyonlarına göre sitokin aktivasyonu yapanlar (inflamatuvar grup, kaspaz 1,4,5,11,12,13,14), apoptozu başlatanlar (başlatıcı inisiyatör grup, kaspaz 2,8,9,10) ve apoptozu yürütenler (efektör grup, kaspaz 3,6,7) olarak 3 ana grupta incelenmektedir. İnsan kaspazlarından kaspaz 1, 4 ve 5; kaspaz-1 alt grubunu oluştururlar. Tüm kaspazlar N-terminal ucunda CARD bölgesi taşırlar (44,45). Kaspazlar hücre içinde inaktif monomerler (zimojen form) şeklinde bulunurlar. Monomerik inaktif prekürsörler dimerizasyon (oligomerizasyon) ile aktif hale geçer (46).

ASC, nötrofillerde inflamasyonu ve apoptozu regüle etmek üzere eksprese edilen adaptör bir proteindir. Amino ucunda bir PYD (pirin) bölgesiyle karboksi ucunda bir CARD bölgesi içerir. ASC'nin PYD ve CARD bölümleri protein-protein etkileşim bölümleridir ve ASC'nin oligomerizasyonunda önemli rol oynarlar (47).

Chae ve ark. (48) tarafından 2006 yılında yapılan başka bir çalışmada ise pirinin B30.2 alt birimiyle kaspaz-1'e doğrudan bağlanarak inaktivasyon sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca şekil 7'de görüldüğü gibi B30.2 alt biriminin üç boyutlu yapısı belirlenmiş ve ciddi hastalık fenotipiyle sonuçlanan mutasyonların (M680I ve M694V) bu alt birimin kaspaz-1 ile birleşme bölgesinde bulunduğu gösterilmiştir. Böylece genotip-fenotip korelasyonuna moleküler bir boyut kazandırılmıştır.



Şekil 6: ASC aracılıklı kaspaz-1 oligomerizasyonunda pirinin rolü. Sol taraf: ön yangı sitokinleri ve LPS ASC'yi uyarır, ASC CARD etkileşimleri tarafından pro-kaspaz-1'e bağlanarak oligomerizasyonunu ve otokatalizi başlatır. Aktif P10/p20 alt üniteleri pro-IL-1β'yı olgun IL-1β'ya çevirerek ateş ve inflamasyonu başlatır. Sağ taraf: yangı önleyici sitokinler pirini indükler, pirin homotipik pirin alt üniteleri etkileşimi ile ASC'ye bağlanır ve kaspaz-1 ile olan etkileşimleri bloke olur (42).



Şekil 7: Pirin ve kaspazın etkileşim modeli. M694V ve M680I mutasyonları bağlanma yüzeylerinde bulunmaktadır (48).

Birden fazla Ortadoğu popülasyonunda yüksek frekansta mutasyona uğramış MEFV geninin bulunması heterozigot taşıyıcıların, muhtemelen Akdeniz havzasının henüz tanımlanamamış endemik bir patojenine karşı artmış direnç gibi henüz bilinmeyen bir avantaja sahip oldukları hipotezine yol açmıştır. Pirinin apoptozis mediatörü olarak iş gördüğü konusunda gittikçe artan kanıtlar bulunmaktadır. AAA patogenezi üzerindeki bir başka hipotez de kemotaksisin özgül bir inhibitörü olan, kompleman faktörü C5a ve interlökin-8'i inaktive eden peritoneal ve sinoviyal sıvılarda bulunan bir serin proteazı da için içine katmaktadır. Bu inhibitörün uygun olmayan inflamasyonu önlemede iş gördüğü düşünülmektedir. AAA'lı hastaların seröz sıvılarında bu C5a inhibitörünün aktivitesinin oldukça azalmış olduğu bulunmuştur. Pirin ve C5a-inhibitörü arasındaki hipotetik ilişki henüz kurulamamıştır (27).

5.2. Sitokinler

Sitokinler; aktive olan hücreler tarafından sentezlenen, hücre sel büyüme, inflamasyon, immünite, doku onarımı ve hematopoez gibi önemli biyolojik olaylarda rol oynayan, molekül ağırlığı 8-110 kDa arasında değişen, glikoprotein yapısında sinyal polipeptidleridir (49).

Lenfositler tarafından üretilen sitokinler “lenfokin”, monositler tarafından üretilenler “monokin”, kemotaksiste etkili olanlar “kemokin” ve tek bir lökosit tarafından üretilip diğer lökositler üzerinde rol oynayan sitokinler ise “interlökin” olarak tanımlanmaktadır. Sitokinler, üretildikleri hücreler üzerine etki ederek “otokrin” etki, komşu hücreleri etkileyerek “parakrin” etki veya uzaktaki hücreleri etkileyerek “endokrin” etki gösterirler. Değişik hücre tipleri aynı sitokini salgılayabilir ve tek bir sitokin farklı hücre tipleri üzerine “pleiotropik” etki gösterebilir. Benzer görevler farklı sitokinler tarafından da uyarılabilir. Genelde, bir sitokin diğer sitokinleri üreten hedef hücreleri uyararak bir dizi şelale şeklinde salgılanırlar. Sitokinlerin bir kısmı sinerjik etki gösterirken, bir kısmı ise antagonistik etkiye sahiptir (50).

Sitokinler hormona benzemekle beraber özelleşmiş bir dokudan değil de çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon kabul edilemezler (51). Hormon ve sitokin arasındaki farklılıklar tablo 3’te gösterilmiştir (52).

Tablo 3: Hormon ve sitokin arasındaki farklılıklar (52)

Hormonlar	Sitokinler
Özel tek bir hücreden sentezlenir	Farklı doku ve hücrelerden sentezlenir
Her hormonun tek fonksiyonu vardır	Yapısal olarak birbirinden farklı olan sitokinler aynı etkiyi gösterebilir
Belli hedef hücrelere spesifik olup sınırlı etki spektrumuna sahiptirler (insülün hariç)	Çok sayıdaki hedef hücreye çoklu etki gösterebilirler (pleiotropizm)

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin ortak birçok özellikleri vardır. Bunlar (53):

1) Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında üretilirler ve bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar. Doğal bağışıklıkta lipopolisakkarid gibi mikrobik ürünler mononükleer fagositleri direkt olarak uyararak kendi sitokinlerini salgılatırlar. T hücrelerinden türeyen sitokinler yabancı antijenlerin özel olarak tanınmasına yanıt olarak meydana gelirler.

2) Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir durumdur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu transkripsiyonel aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde, sitokinler hızla salınırlar.

3) Sitokinler çeşitli hücreler tarafından üretilir. Yani bu moleküllere toptan sitokin demek ve lenfokin ya da monokin gibi sellüler kökenlerini belirtmemek daha uygundur.

4) Sitokinler birçok farklı hücre tiplerine etki ederler.

5) Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı birçok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir (dakikalar, saatler, günler).

6) Sitokin etkinliği genellikle gerektiğinden fazladır.

7) Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkiler; Yani; ikinci, üçüncü sitokin, birinci sitokinin biyolojik etkisine ortam hazırlayabilir.

8) Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize eder veya additif etki gösterebilir. Ya da bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler.

9) Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran

proteinler olup, ekstrasellüler domainleri vardır ve özel olarak sitokinleri ve büyüme faktörlerini tanır ve bağlarlar. Sitokin reseptörleri, ligandlarına karşı aşırı affinite gösterirler. Dissosiasyon katsayıları (Kd) 10^{-10} - 10^{-12} M arasındadır. Biyolojik etki oluşturabilmek için çok küçük miktarlarda sitokin yeterlidir.

10) Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından düzenlenir.

11) Sitokine verilen hücrel yanıtın çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir.

12) Birçok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki ederler.

5.2.1. Sitokinlerin Sınıflandırılması

Sitokinler genel özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar (54):

1- Nonspesifik immüniteyi ve inflamasyonu arttıranlar (proinflamatuvar sitokinler): IL-1, IL-5, IL-6, IL-8, interferon α , interferon γ , tümör nekrozis faktör (TNF).

2- Lenfosit aktivasyonu, büyüme ve diferansiasyonunda görev alanlar (spesifik immünite): IL-2, IL-4, IL-5, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16.

3- Kemik iliği prekürsörlerinin koloni stimülasyonunu yapanlar: Granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF) ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF).

4- Regülatör sitokinler: IL-10 (sitokin sentez inhibitör faktör), transforming growth factor- β (transforme edici büyüme faktörü, TGF- β).

5- Kemokinler: IL-8; RANTES [aktivasyonla regüle edilen, normal T hücresi ekspresyonu ve sekresyonu (Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted)]; monosit kemoatraktan protein (MCP) 1, 2 ve 3; eotaksin; makrofaj inflamatuvar proteinler (MIP-1 α , MIP-1 β).

Bir diğer sınıflandırmada ise sitokinler inflamasyon reaksiyonlarındaki rollerine göre proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılmaktadır. IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı immün yanıtın ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi antiinflamatuvar sitokinler, immün yanıtı ve bazı sitokinlerin sentezini baskılayabilirler. IL-10'un temel biyolojik etkinliği T hücrelerinden sitokin yapımını baskılamak olduğu için sitokin sentez inhibitörü olduğu bilinir. Bazı sitokinler ise alışılmadık bir şekilde hem pro hem de antiinflamatuvar etki gösterebilir. Örneğin IL-8, lokal inflamasyon sırasında nötrofil etkinliğini sağlayabilir. IL-

8'in inflamasyon sahasında hızla çoğalması da inflamasyona nötrofil infiltrasyon yanıtını azaltıcı etki gösterir (55,56,57). Tablo 4'te bazı sitokinlerin molekül ağırlıkları, hücre kaynakları, hedef hücreleri ve fonksiyonları gösterilmiştir (56,57).

Tablo 4: Bazı sitokinlerin molekül ağırlıkları, hücre kaynakları, hedef hücreleri ve fonksiyonları (56,57)

Sitokin	MA (kDa)	Kaynak Hücre	Ana Hüresel Hedefler ve Biyolojik Etkiler
IL-1	IL-1 α 15-17 kDa, IL-1 β 15-17 kDa	Makrofajlar, Fibroblastlar, T ve B lenfositler, Epitelial hücreler	Endotelyal hücreler: aktivasyon (enflamasyon, koagülasyon) Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi
IL-6	21-28 kDa	T lenfositler, Makrofajlar, Fibroblastlar, mast hücreleri	Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi B lenfositler: antikor- yapıcı hücrelerin çoğalması
IL-8	8-9 kDa	Fibroblastlar, monositler, endotelium	Lökositler: kemotaksi ve aktivasyon
IL-10	-	T ve B lenfositler	Makrofajlar: IL-12 yapımının inhibisyonu, eş-uyaran ve sınıf II MHC moleküllerinin ekspresyonunda azalma
Tümör Nekrozis faktör (TNF)	TNF- α 17 kDa TNF- β 25 kDa	Makrofajlar, T ve B lenfositler T lenfositler, makrofajlar	Endotelyal hücreler: aktivasyon (inflamasyon, koagülasyon) Nötrofiller: aktivasyon Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi Kas, yağ: katabolizma (kaşeksi) Pek çok hücre tipi: apoptoz
IFN- γ	20-25 kDa	T lenfositler	Makrofajların aktivasyonu, bazı antikor yanıtlarının uyarılması
Tip I interferonlar (IFN- α ve IFN- β)	IFN- α 18-20 kDa, IFN- β 23 kDa	IFN- α : makrofajlar IFN- β : fibroblastlar	Tüm hücreler; antiviral konum, artmış sınıf I MHC ekspresyonu Doğal öldürücü hücreler: aktivasyon

5.2.2. Sitokinlerin yapısı

Kararlı bir yapıya sahip olan sitokinlerin çoğunda disülfid bağları ve karbonhidrat yan zinciri bu moleküllere stabil, parçalanmaya dirençli olma özelliği verir. Monomer, dimer ve trimer yapıda olabilen sitokinlerin kristalografik yöntem ile yapılan çalışmalarda üç boyutlu yapılarında farklılıklar gözlenmekle beraber dört farklı aile grubu belirlenmiştir (58).

1- Dörtlü α -heliks demeti: En çok üyesi bulunan bu ailenin kısa zincir alt tipi (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, GM-CSF, M-CSF, IFN- γ) ve uzun zincir alt tipi (IL-6, IL-12, Epo, G-CSF, CNTF, IL-11, IFN- α , IFN- β , IL-10) olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır.

2- Kısa zincir α/β yapıları: Üç alt grubu bulunmaktadır (kemokinler, insülinle ilişkili sitokinler).

3- Uzun zincir β -tabakalı yapılar: Bu grupta TNF alt grubu (TNF- α , TNF- β), IL-1 ve FGF yer almaktadır.

4- Mozaik yapı: Bu ailedeki sitokinler (IL-12) heterojen yapıdadır.

5.2.3. Tümör nekrozis faktör (TNF)

TNF orijinal olarak 25 yıl önce belirlenmiş ve tümör dokusunda hemorajik nekroza neden olduğu için tümör nekrozis faktör (TNF) olarak isimlendirilmiştir (59).

Ev sahibi hücrelerin gram negatif bakterilere karşı esas mediatörüdür. Diğer enfeksiyöz organizmalara karşı yanıtta da rol oynar. TNF'nin hücresel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. T hücreleri, aktive naturel killer hücreleri ve aktive mast hücreleri de bu proteini salgılar. İnsan TNF'si nonglikolize bir transmembran protein olup, molekül ağırlığı 17 kDa'dır. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orijinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β 'dir (lenfotoksin). Biyolojik etkinlik yönünden aralarında fark yoktur (53,55).

Hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak G protein sistemi aracılığıyla ikincil mesajcıları uyararak değişik hedef hücrelerde fosforilasyon reaksiyonlarını hızlandırırlar. İki tip TNF reseptörü vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNFR Tip I (75-80 kDa) ile T hücre proliferasyonuna neden olan TNFR- Tip II (55-60 kDa)'dir. Buna ek olarak TNF reseptörlerinin çözünebilen formları (sTNFR) da mevcuttur ve bunlar hücre yüzeyindeki TNF reseptörlerinin yıkımı

sonucu proteinlerden kaynaklanırlar. sTNFR'lerin biyolojik önemi TNF ile yarışıp onun etkilerini bloke etmesidir (53).

İnsan TNF- α 'sı 233 aminoasitlik, 26 kDa'lık, sinyal peptidi olmayan bir proprotein olarak üretilir. Yeni sentezlenmiş proTNF- α ilk olarak plazma zarında bulunur ve sonra matriks metaloproteazlarının aktiviteleri sayesinde olgun monomeri serbest bırakmak üzere hücreler arası alanda parçalanır. TNF- α dönüştüren enzim (TACE) bir adamalysindir ve membranla bağlantılı enzimler grubunun bir üyesidir. Bu grup enzimler; TNF- α ve TNF reseptörleri de dahil olmak üzere membranla bağlantılı pek çok proteinin prosesinde kritik bir rol oynar (60).

Makrofajlarda TNF- α sentezi virüs, bakteri ve parazit ürünleri, tümör hücreleri, kompleman, sitokinler (IL-1, IL-2, IFN- γ , GM-CSF, M-CSF ve TNF- α), iskemi ve travma gibi biyolojik, kimyasal ve fiziksel etkenlerle uyarılır. TNF- α primer olarak makrofajlar olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından salınırlar. Bunlar; İmmün hücreler (B ve T lenfositler, basofiller, eosinofiller, monositler, doku makrofajları, dentritik hücreler, NK hücreleri, nötrofil ve mast hücreleri) , nonimmün hücreler (astroitler, fibroblastlar, glia hücreleri, granülosa hücreleri, keratinositler, nöronlar, osteoblastlar, retina pigmenti epitelyal hücresi, düz kas hücreleri) ve çeşitli tümör hücreleri tarafından üretilebilirler (60,61).

TNF- α , inflamasyonda en önemli ana mediatördür ve immünoinflamatuvar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda (10^{-9} M) lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicidirler. Düşük yoğunluklarda biyolojik etkileri şunlardır (59):

1) TNF, lökositlere karşı endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri (ICAM-I, NCAM-I, ELAM-I gibi) aracılığı ile daha yapışkan hale getirerek damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini ekspresse etmelerine neden olur. TNF aynı zamanda nötrofillere de etki ederek endotel hücrelerinin yapışkan özelliklerini artırır.

2) TNF, inflamatuvar lökositleri özellikle nötrofilleri mikropları öldürecek şekilde aktive eder.

3) TNF, IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.

4) TNF, virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir. TNF'nin bu etkileri mikroorganizmalara karşı verilen inflamatuvar yanıtta önemlidir.

TNF'nin enfeksiyonlara karşı temel sistemik etkileri aşağıdaki gibidir (53);

1) TNF, endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Bu etkiyi IL-1 ile yapar. Ateşin TNF ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından arttırılan prostaglandin E₂ senteziyle olur.

2) TNF, mononükleer fagositler ve vasküler endotel hücelere etki ederek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınmasını uyarır.

3) TNF, hepatositlere etki ederek serum amiloid A ve P proteini, kompleman faktör 3, haptoglobulin, C reaktif protein, α_1 asid glikoprotein, faktör B gibi bazı akut faz proteinlerinin sentezini arttırır.

4) TNF, damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder.

5) TNF, kemik iliğini baskılayarak ana hücre bölünmesini engeller. Sürekli TNF verilmesi lenfopeni ve immun yetmezliğe neden olur.

6) TNF, deney hayvanlarına uzun süre verildiğinde kaşektik metabolik değişikliklere neden olur. Kaşeksi, TNF ile uyarılan iştah azalması sonucu oluşur. TNF lipoprotein lipaz aktivitesini arttırır. TNF'nin bizzat kendisi deney hayvanlarında kaşeksiye neden olurken, IL-1 gibi sitokinler tüberküloz ve kanser gibi kronik hastalıklarda kaşektik duruma katkıda bulunurlar.

TNF- α 'nın bazı biyolojik etkileri tablo 5'de gösterilmiştir (60).

5.2.4. İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 gen ailesinin belirlenmiş yedi üyesi bulunmaktadır. Bunlardan ilk üç üyenin hastalıklardaki rolleri tanımlanmıştır. Ancak son zamanlarda bulunan diğer dört üyenin hastalıklardaki rolü bilinmemektedir. IL-1 gen ailesinin, ilk üç üyesi IL-1 α , IL-1 β ve IL-1Ra (IL-1 reseptör antagonisti)'dir. IL-1 α ve IL-1 β iki farklı genin ürünüdür. Fakat her ikisi de aynı hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar ve biyolojik etkileri temelde özdeştir. IL-1 α ve IL-1 β agonist aktiviteye sahiptirler, IL-1Ra ise spesifik reseptör antagonistidir. IL-1 α ve IL-1 β lider peptidsiz prekürsör olarak başlıca makrofaj ve endotel hücresinde sentezlenirler. Herbir prekürsörün molekül ağırlığı 31 kDa'dur. Spesifik hücrel proteazlarla 17 kDa ağırlığında matür formlarına dönüşürler. IL-1 β , IL-1 α 'dan 10-50 kat daha yüksek düzeyde sentezlenir ve proinflamatuvar özellikleri daha güçlüdür. IL-1 β inaktif prekürsör formda üretilmektedir. IL-1 β 'nin inaktif prekürsör formu serin proteaz

Tablo 5: TNF- α 'nın bazı biyolojik etkileri (60)

İmmün hücreler	Nonimmün hücreler	Sistemik Etkileri
Monosit/Makrofaj	Damar Endotel Hücreleri	Santral Sinir Sistemi
TNF- α aktivasyonu	Anjiyogenezis düzenlenmesi	Ateş
Sitokin ve prostaglandinlerin uyarılması	Artmış permabilite	İştahsızlık
Kemotaksis ve transmigrasyon	Antifibrinolitik/prokoagülan	Hipofiz hormon sekresyonunun değişimi
Diferansiyasyon	Proliferasyon baskılanması	Kardiyovasküler
inhibisyonu Proliferasyon baskılanması	Hücre iskeleti yapılandırması	Şok
Polimorfonükleer Lökosit	NO sentaz uyarılması	Kapiller sızıntı
Esas integrin cevabı	IL-1,IL-3,G-CSF ve GM-CSF sitokinlerinin uyarılması	Gastrointestinal
Fagosit kapasitesinin artması Süperoksid oluşumunu artırır	Prostasiklin uyarılması	İskemi
Ekstrasellüler matriks aderensini artırır	E-selectin, ICAM ve VCAM uyarılması	Kolit
Lenfositler	Fibroblastlar	Hepatik nekroz
T lenfositlerin koloni oluşumunu indükler	Proliferasyonun uyarılması	Albümin üretiminin inhibisyonu
B lenfositlerde süperoksidasyonu uyarır	IL-1, IL-6 ve LIF uyarılması	Hepatik katalaz azalması
Olgun T lenfositlerde apoptozisi uyarır	Metalloproteazların (MMPs) uyarılması	Metabolik
	Solunum aktivitesinin baskılanması	Pozitif lipid katabolizması
	Kollagen sentezinin inhibisyonu	Pozitif protein katabolizması Stres hormonlarının salınımı
	Yağ Hücreleri	İnsülin rezistansı
	Serbest yağ asitlerinin salınımını artırır	İnflamatuvar
	Lipoprotein lipazı baskılar	Sitotoksik aktivite
	Endokrin Sistem	NK hücre fonksiyon artışı
	ACTH ve Prolaktini uyarır	IL-2 aracılı tümör toksisitesi
	TSH, FSH ve GH inhibe eder	
	Steroidogenezisde IL-1 inhibisyonunu artırır	

ailesinden IL-1 konvertaz enzimi tarafından aktive edilmektedir. Dolaşımdaki IL-1 aktivitesinin çoğunu IL- β oluşturur. IL-1 için iki farklı reseptör belirlenmiştir. Bunların her ikisi de immünglobülin üst familyasının üyeleridir. IL-1 moleküllerinin çeşitli şekillerdeki fibroblast büyüme faktörü ile de yapısal ilişkisi vardır (53,60,61).

Monositler hem IL-1 α hem de IL-1 β sentezlemelerine rağmen daha çok IL-1 β sentez ederler. Buna karşılık keratinositler daha çok IL-1 α salgırlar. IL-1, organizmada hemen hemen bütün hücreler tarafından yapılmakla beraber daha çok makrofajlar, keratinositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, dendritik hücreler, fibroblastlar ve nötrofillerde de sentezlenmektedir. Bazı hücrelerde IL-1 devamlı olarak yapılabirirse de mikroorganizmalar, LPS, muramil dipeptid gibi maddelerle uyarıdan sonra daha fazla IL-1 salgılanmaktadır. T lenfositlerini uyarın ajanlar aynı zamanda makrofajları da uyararak

IL-1 oluşmasına neden olabilirler. Amniyotik sıvı, deri ve beyin gibi dokularda herhangi bir uyarı olmadan da IL-1 salgılanabilir (51).

IL-1, doğal inhibitörü olan tek sitokindir. Bu inhibitör etkiyi gösteren mononükleer fagositlerden salınan IL-1'e yapısal olarak benzeyen ve IL-1 reseptörüne bağlanmak için IL-1 ile yarışan IL-1Ra olup, IL-1'in bilinen tüm etkilerini yarışmalı olarak antagonize eder ama diğer etkileri tam bilinmemektedir (62).

IL-1, TNF gibi doğal immun sistemin en önemli sitokinidir. IL-1 ile TNF'nin etkileri hemen hemen tamamen aynıdır. Yapıları ve reseptörlerinin farklı olmasına karşın, etkilerinin bu kadar benzer olmasının temelinde her ikisinin de aynı transkripsiyon faktörlerini aktive etmesi yatmaktadır. Yine de bu iki sitokin arasında birçok önemli farklar vardır (53):

1) IL-1'in kendisi doku zararı oluşturmaz ve TNF'nin neden olduğu doku zararını potansiyalize eder. Çok yüksek sistemik yoğunluklarda ölümcül değildir.

2) IL-1, TNF'nin inflamatuvar ve prokoagülan özelliklerini taklit etse de Schwartzman reaksiyonunda mediatör olarak TNF'nin yerini alamaz ve tümörlerin hemorajik nekrozuna neden olmaz.

3) Birçok tümör hücresi IL-1 tarafından invitro olarak eritilemez.

4) IL-1'in major histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerinin ekspresyonunu arttırıcı yeteneği yoktur.

5) IL-1, koloni stimüle eden faktörlerin kemik iliği hücrelerine etkilerini engellemekten çok güçlendirir.

IL-1'in temel görevi, enfeksiyon ve diğer inflamatuvar uyarılara karşı doku cevabını yönetmektir. IL-1 düşük yoğunlukta bölgesel inflamatuvar olaylara aracılık eder. Özel olarak IL-1, mononükleer fagositler ve damar endoteline etkiyle IL-1'in daha sonraki sentezini arttırır. IL-1, kemik iliğinde T hücre aktivasyonu, B hücre proliferasyonundan sorumludur. Hematopoietik büyüme faktörleri için kofaktör görevi yapar, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, interferon (IFN), koloni stimulan faktör (CSF) ve TNF sentezinin indüksiyonundan sorumludur. IL-1 aynı zamanda TNF'nin birçok inflamatuvar özelliğini de paylaşır. Örneğin; IL-1 endotel hücrelerine etkiyle pıhtılaşmayı arttırır. Lökositlerin biraraya yapışmasına aracılık eden yüzey moleküllerinin ekspresyonunu arttırır. IL-1 direkt olarak nötrofil gibi inflamatuvar lökositleri aktive etmez. Mononükleer ve endotel hücrelerine etki ederek lökositleri aktive eden kemokinlerin sentezine neden olur. IL-1 daha yüksek miktarlarda salgılandığında da, kan dolaşımına girer ve endokrin etkiler gösterir. IL-1 beyinde ilk

tanımlanan sitokinlerden olup, başlangıçta endojen pirojen olarak tanımlanmıştır. Sistemik IL-1 hipotalamusta vücut ısısını kontrol eden merkeze doğrudan etki ederek ateşin oluşumuna neden olur. Kilo kaybı, uykunun düzenlenmesi, endokrin sistem, immün sistem ve sinir sistemi fonksiyonlarını değiştirme, nöronal iletim, epilepsi, sinir hücre ölümü dahil IL-1'in endojen ve ekzojen bir çok etkisi vardır. Karaciğer tarafından akut faz proteinlerinin sentezini artırır ve metabolik zayıflamanın başlatılmasına neden olur. IL-1, hipotalamusa etki ederek kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF)'ün salınmasına neden olur. CRF de adrenal kortekse etki ederek steroidlerin salınımını artırır. Kortikosteroidler de IL-1 ve TNF'nin salınımını inhibe eder. IL-1, kollagen doku üzerine etki ederek osteoklastik aktiviteyi artırır ve böylece kemik turnoverinin artmasına neden olur. Osteoblastlarda ise alkalen fosfataz aktivitesini artırır. Fibroblastların ve sinovyal hücrelerin proliferasyonunu sağlar (50,53,62).

5.2.5. İnterlökin-6 (IL-6)

İnterlökin 6 (IL-6) çok geniş bir hücre grubu tarafından üretilen pleotropik bir sitokindir. İlk olarak preaktivasyon halindeki normal insan lenfositleri ve Epstein Barr virüsünce transformasyona uğratılmış B lenfositler tarafından immunglobulin salgılatan bir faktör olarak tanımlanmıştır. Değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen, birçok işlevi olan bir sitokindir. Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyarın, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sağlayan etkinliğe sahiptir (51,55,60).

IL-6 geni 7. kromozom üzerinde bulunur. Postranskripsiyonel modifikasyona bağlı olarak 21-28 kDa molekül ağırlığında 212 aminoasitten oluşur. Yapısında iki farklı glikozilasyon alanı ve dört sistein rezidüsü içerir. IL-6'nın reseptörü 60 kDa'luk bağlayıcı bir protein ile 130 kDa'luk sinyal ileten alt birimden oluşur. IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerinedir (53,60,63).

IL-1 β , TNF- α , Platelet derived growth faktör (PDGF) ve IFN- γ gibi bazı sitokinler çeşitli hücrelerde IL-6 gen ifadesini uyarabilirler. IL-6 T ve B lenfositler, fibroblast, endotel hücresi, monositler, dendritik hücreler, makrofajlar, keratinositler, glial hücreler, stromal hücreler, osteoklastlar, mezengial hücreler ve bazı tümör hücrelerini içeren geniş bir hücre grubu tarafından üretilir (63).

Proinflamatuvar sitokin olan IL-6 akut faz yanıtının başlıca mediatörüdür. Karaciğerde hepatositleri uyararak C Reaktif Protein (CRP), amiloid A, α_1 asit

glikoprotein, α_1 antitripsin gibi akut faz proteinlerini salgılatır. IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği, B lenfosit matürasyonunu stimüle etmesidir. IL-6'nın etkisi ile B lenfositler, immünglobulin sentezleyebilen olgun plazma hücrelerine farklılaşırlar. Hematopoetik ve megakaryositik öncüllerin proliferasyonunu sağlayarak, hematopoezi ve trombopoezi uyarır. Nötrofil aktivatörüdür. IL-6; IL-2 ve IL-2 reseptör gen ifadesini uyararak, T lenfositlerin proliferasyonunu ve sitotoksik T hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Bununla birlikte IL-6'nın pirojenik etkisi de vardır (60,63).

IL-6'nın TNF- α , IL-1 ve kemokinlerin gen ifadelerinin down regülasyonu ile proinflamatuvar yanıtı baskılama kapasitesine sahip bir antiinflamatuvar sitokin olduğu düşünülmektedir (60).

IL-6'nın vücuttaki bazı biyolojik aktiviteleri şunlardır (60):

- 1- Endojen pirojen,
- 2- Karaciğerde akut faz cevabını indükleme,
- 3- Anoreksi ve kaşeksi,
- 4- Trombopoez oluşumu,
- 5- Myeloma hücrelerinin büyümesi,
- 6- Hematopoetik öncüllerin gelişmesi,
- 7- M1 hücrelerinin makrofajlara farklılaşması,
- 8- Nöronal canlılığı sürdürme,
- 9- TNF- α ve IL-1 baskılanması.

5.2.6. İnterlökin-8 (IL-8)

İnterlökin-8 (IL-8) inflamasyonla ilişkili sitokinler arasında yer almakta ve akut inflamasyon bölgesine lökositleri çekebilme yeteneğine sahip olan bir kemokin olarak bilinmektedir. IL-8, monosit kemoatraktan protein-1 ve makrofaj inflamatuvar protein-1 α ve 1 β , lökosit kemotaktik faktör olarak tanımlanmıştır (64).

Kemokinler, 8-12 kDa moleküler ağırlığa sahip, heparin bağlayan proteinler olup % 20-70 oranında aminoasit dizilerinde homoloji göstermektedirler. Kemokinler, yapılarındaki sistein (cysteine=C) rezidülerinin bulunduğu molekülün N-terminal ucundaki yerleşim pozisyonlarına göre CXC, CC, XC ve CX3C olmak üzere 4 gruba ayrılırlar. Fakat bu gruplardan sadece iki tanesi detaylı olarak karakterize edilmiştir. Alfa ve beta kemokinler, yapılarında 4 sistein içermekte olup kemokinlerin en büyük grubunu

oluştururlar. Alfa kemokinlerin yapılarında bulunan ilk 2 sistein rezidüsü tek bir aminoasit ile ayrılır ve CXC (Sistein-X aminoasit-Sistein) olarak adlandırılır. Bu ailenin en iyi tanımlanmış olanı IL-8'dir. Alfa kemokinler, N-terminal ucuna yakın glutamik asid-lösin-arjinin dizilerini içerip içermemelerine göre de alt gruplara ayrılmaktadırlar. Alfa-kemokinler CXC dizilerinde nötrofiller için kemotaktik özelliğe sahip olan glutamik asid-lösin-arjinin aminoasit dizilerini taşırlar. Buna karşılık, α -kemokinler CXC dizilerinde lenfositler üzerinde rol oynayacak aminoasit dizileri taşımazlar; bu nedenle α -kemokinler nötrofillere etki ederken lenfositlere karşı etki göstermezler (53,65).

Tüm kemokin reseptörleri membran bağımlı moleküller olup, yapılarında 7-transmembran domainleri bulunmakta ve G-proteinleri ile çiftler oluşturmaktadırlar. Kemokin reseptörleri, 'G- protein- eşleşmeli protein' yapısındadır ve lökositler üzerinde eksprese olmaktadır. Kemokinler, hedef hücreler üzerindeki özel G-protein-eşleşmeli hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak hücre içi sinyali başlatırlar, devamında da hücre göçü ve aktivasyonunun indüklenmesine yol açarlar (66).

Kemokinler genellikle lokal olarak salınan ve etki eden maddelerdir. Çoğu organda bazal kemokin üretimi düşük olup, m-RNA düzeyi, total hücresel RNA düzeyinin %1'ini aştığı durumlarda hızla ortaya çıkar. İskemik, toksik veya inflamatuvar lezyonlarda kemokin sekresyonu belirgin olarak artar. Kemokinler için en önemli uyaranlar şunlardır:

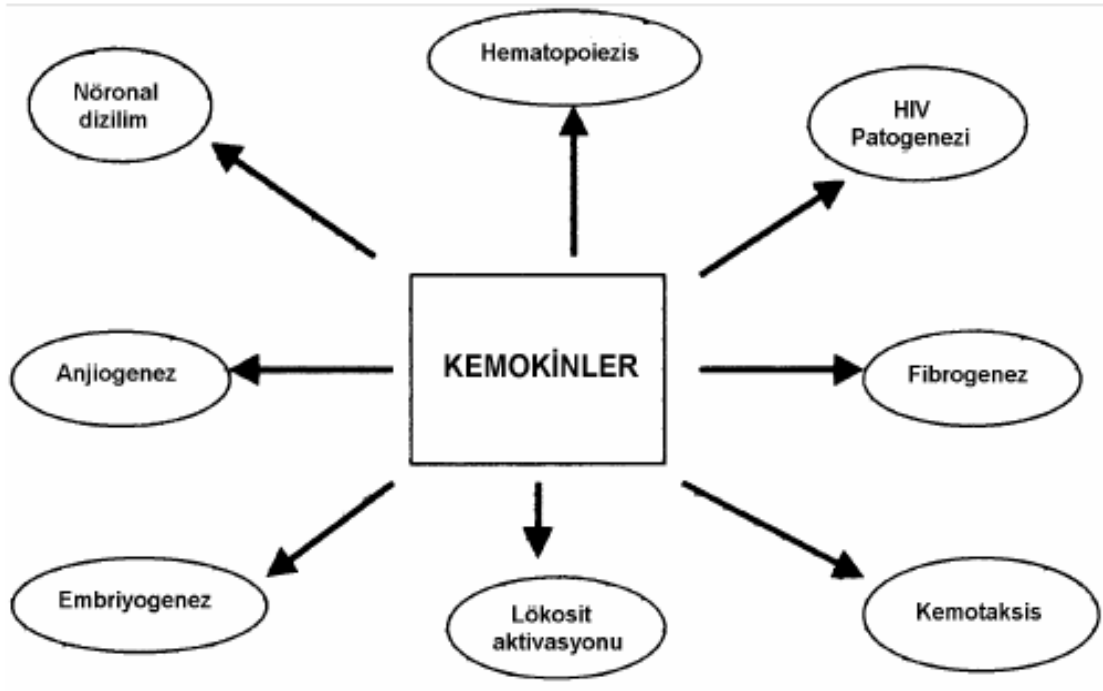
- IL-1 β , TNF- α (Tümör nekrozis faktör- α)
- Lipopolisakkaritler
- Bazı büyüme faktörleri (PDGF: platelet derived growth faktör)
- Viral enfeksiyon ajanları
- Bakteriyel ürünler

IFN- γ , IL-4, Th-1 ve Th-2 lenfositlerden salgılanan sitokinler belirli bir sıra ile kemokin üretimini arttırlar, öncelikle IL-1 ve ardından TNF- α hücrelerden kemokin salgılanmasını sağlarlar. Bunun yanında kemokin üretiminin inhibisyonu; TGF- β (transforming growth faktör), IL-4 ve IL-10 gibi sitokinler ile olur; ancak bu etkileşim kemokine ve hücreye göre değişiklik gösterir. Kemokin aktivasyonunun önlenmesi kronik inflamatuvar cevap sırasındaki kemokine karşı oluşan yüksek afiniteli antikörlerin üretimi ile olmaktadır (67).

IL-8 monosit/makrofaj, T hücreleri, nötrofiller, endotelial hücreler, fibroblastlar ve keratinositleri içeren birçok hücre çeşidi tarafından belli patolojik ve inflamatuvar

durumlarda üretilirler. IL-8, nötrofiller için güçlü bir kemoatraktandır (T-lenfosit, basofil, eosinofillere de kemotaktiktir) (68).

Kemokinler inflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve kök hücrelere kemotaksi yaptıran sitokinlerdir. Kemokinlerin, lökosit-endotelial hücre ilişkilerinde, T ve B hücre matürasyonunda, immün denetim, tolerans ve immünitinin oluşumunda, T-B hücre iletişimde ve primer immün cevabın oluşmasında etkin görevleri vardır (66). Şekil 8’de kemokinlerin biyolojik rolleri özetlenmiştir (69).



Şekil 8: Kemokinlerin biyolojik rolleri (69)

5.2.7. İnterlökin-10 (IL-10)

İnterlökin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. Kromozom 1 üzerinde bir genden kodlanır. Primer olarak T lenfositler, monositler, makrofajlar, B lenfositler ve nötrofiller tarafından sentezlenen ve supressif bir sitokin olan IL-10, konakçının gram negatif sepsiste organ yetmezliği ve ölümden korunmasında kritik bir rol oynar. IL-10 koruyucu aktivitesini IL-1 β , TNF- α , IL-8, IFN- γ , IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediatorlerini inhibe ederek gösterir. IL -10 immün cevabın önemli bir regülatörüdür. IL-10 birçok sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımda ölçülebilir. Otoimmün, malign, enfeksiyöz hastalıkları disregüle ettiği düşünülen önemli bir sitokindir (70).

İnterlökin-10'un hematopoietik hücre dizileri üzerine multiple biyolojik etkileri vardır. İnsanlarda B lenfositleri için büyüme ve differansiye edici faktör olarak, fare modellerinde T lenfositleri için büyüme faktörü olarak etki gösterir. Bu özellikleri dışında immunosüpressif etkileri de belirlenmiştir. T hepler-1 hücrelerinden IL-2 ve IFN- γ yapımını, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu bloke eder. Ayrıca monosit ve makrofajlardan sitokin yapımını inhibe edebilir (71).

IL-10'un üretimi insan T hücrelerinde IL-12 ve IL-6 tarafından, monositlerde ise TNF- α tarafından arttırılır. Bu da gösteriyor ki, IL-10'un T hücreleri ve monositlerdeki üretiminin düzenlenme mekanizmaları farklıdır. LPS tarafından aktiflenen monositlerde inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α 'nın üretimi ile anti-inflamatuvar etkiye sahip olan IL-10 salınımı gerçekleşir. Bununla birlikte IL-10, TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin sentezini transkripsiyonel (TNF- α ve IL-1) ve posttranskripsiyonel (IL-1 ve IL-6) düzeyde baskılamaktadır (72).

IL-10, NK hücrelerinin güçlü bir uyarıcısıdır ve NK hücre aktivasyonunu arttırırken, hücre yıkımını da kolaylaştırmış olur. Ayrıca IL-10, doğal ve kazanılmış bağışıklık arasında bağlayıcı görev üstlenir. Bu işlevini antijen sunucu hücreler (ASH) için patojenlerin ve ölü hücre artıklarının temizliğine katkıda bulunarak yapar. Çünkü IL-10'un indüklediği monosit ve makrofajlar antikor bağımlı sitotoksiste ve opsonize edilmiş partiküllerin fagositozundan sorumludur (73,74).

IL-10, patojenlere karşı verilen immün cevabın sınırlandırılmasında önemli rol alır. Böylece, konakçı en az immün hasarla karşılaşarak patojen yok edilir. Aynı şekilde, IL-10'un periferik tolerans ve otoimmüniteye karşı korunmada da önemli rolü olduğu önerilmiştir. Deneysel otoimmün ensefalit (EAE), diyabet, insüline bağlı diyabetes mellitus (IDDM) ve romatoid artiritis (RA) gibi birçok kronik otoimmün hastalıkta Th1 hücreleri; IFN- γ , lenfotoksin ve TNF gibi sitokinler üretmektedir. Bu yüzden bu hücrelerin otoimmün hastalıklarda patojenik rolü olduğu önerilmiştir (73,75).

Hayvan sepsis modellerinde IL 10'un lipopolisakkarit toksisitesini azalttığı gösterilmiştir. Anti inflamatuvar etkileri nedeniyle IL 10'un akut hastalıklarda önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür (76).

IL-10R reseptörü JAK/STAT reseptör ailesine aittir. Fakat IL-10 tek başına bu antiinflamatuvar etkisini gösteremez. Bu etkisini gösterebilmesi için öncelikle MAPK yolunu kullanarak heme oxygenase (HO-1) enzimini üreten geni aktive etmesi gerekir. Bunun için IL-10 reseptörüne bağlandıktan sonra JAK/STAT molekülleri yardımıyla

MAPK yoluna girer ve sonra da P38 kinazlar yardımıyla HO-1 geninin transkripsiyonunu gerçekleştirir. Bu gen de HO-1 enzimini üreterek hem molekülünün biliverdine dönüşümünü katalizler. Daha sonra biliverdin redüktaz enziminin katalizörlüğünde bilirubine dönüştürülür. Böylece anti-inflamatuar cevap oluşur (77).

5.3. C-Reaktif Protein (CRP)

C-reaktif protein (CRP), akut faz reaktanı gibi davrandığı tespit edilen ilk proteindir. İlk kez pnömokokların somatik C-polisakkaridlerine bağlanıp presipite ettiği tespit edildiği için bu isim verilmiştir (78). Yakın zamana kadar sadece interlökin uyarısıyla ve yalnızca karaciğerde yapıldığı sanılmakta iken, son yapılan çalışmalarda koroner arter düz kas hücrelerinde ve hastalıklı periferik damarlarda da CRP sentezinin yapıldığı ortaya koyulmuştur. Aterosklerotik damarlardaki CRP mRNA düzeyleri, karaciğerdeki ve sağlıklı damarlardaki düzeylerine oranla 7 ile 10 kat artmış olarak bulunur (79).

Artmış CRP düzeyleri, inflamasyonun varlığını ve şiddetini belirlemektedir. Doku hasarı, inflamasyon ve enfeksiyon, sitokin aracılığı ile CRP'nin dolaşımdaki düzeyini 1000 kata kadar arttırabilir. Artan CRP değerleri 7-12 gün içerisinde bazal düzeylere tekrar inebilmektedir (80).

Rutin olarak organik hastalıkların takibinde, enfeksiyon tedavisine yanıtın izlenmesinde, immünitesi baskılanmış hastalarda araya giren enfeksiyonların belirlenmesinde, akut faz yanıtı olmayan veya hafif yanıtı olan birkaç özel hastalıktaki araya giren enfeksiyonların belirlenmesinde kullanılmaktadır. CRP fosfotidilkolin, modifiye düşük dansiteli lipoprotein, hasarlanmış hücre zarı veya apoptotik hücreler gibi ligandlara bağlandığında; C1q ve/veya faktör H tarafından algılanır ve kompleman yolunu aktive eder (81).

Bağışıklık sisteminde CRP'nin anahtar işlevleri şunlardır:

1- Zarar görmüş doku hücreleri, bakteri, mantar ve parazitin yapısında bulunan fosfokolini tanıma ve bağlanma özelliği,

2- Fagositoz işlemi için, opsonin karakterinde hareket edebilmesi, bakterileri işaretleme yeteneği, hücre duvarı zarar görmüş hücrelerin belirlenmesi ve bu hücrelerin çekirdek artıklarının tespiti,

3- Fagositik aktiviteyi tetikleyen kompleman sisteminin ilk komponenti olan C1'e bağlanabilmesi,

4- İnflamatuvar sitokinlerin oluşumunu stimüle eden polimorfnükleer lökositlere ve monositlere bağlanabilmesi (82).

Yapılan çalışmalarda AAA atakları esnasında, özellikle CRP gibi akut faz reaktanlarının ve pro-inflamasyon sitokinlerinin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (83). Tunca ve ark (84), atak dışı dönemdeki AAA hastalarının ve heterozigot akrabalarının serum akut faz reaktanları (CRP ve AA) düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan daha yüksek olduğunu savunmaktadır.

6. GEREÇ VE YÖNTEM

6.1. Gereç

6.1.1. Vaka seçimi

Ekim 2009 – Ekim 2010 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde AAA tanısıyla takip edilen 5-15 yaşları arasında 157 hasta (81 erkek, 76 kız) çalışma grubuna alındı. Hastalar, klinik şikayeti olanlar aktif grup (grup 1), olmayanlar ise pasif grup (grup 2) olarak 2 gruba ayrıldı. Aktif grup 81 (41 erkek, 40 kız), pasif grup 76 (40 erkek, 36 kız) hastadan oluştu. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı çocuk (19 erkek, 11 kız) çalışmaya dahil edildi. Hastalar, strip testle revers hibridizasyon analiz tekniği kullanılarak 12 MEFV gen mutasyonu açısından tarandı. Ayrıca hasta ve kontrol grubunda IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ve hsCRP çalışıldı. Çalışılan mutasyonlar, buldukları eksonlar, nükleotid sıraları ve nükleotid değişimleri tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6: Çalışılan AAA mutasyonları

AAA Mutasyonları	Ekson	Nükleotid Sırası	Nükleotid Değişimi
E148Q	2	442	G-C
P369S	3	543	G-C
F479L	5	1413	C-G
M680I	10	2040	G-C
M680I	10	2040	G-A
I692del	10	2074-2076	AAT del
M694V	10	2080	A-G
M694I	10	2082	G-A
K965R	10	2084	A-G
V726A	10	2177	T-C
A744S	10	2276	G-T
R761H	10	2283	G-A

6.1.2. Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğinden mutasyon saptanması amacıyla Biyokimya Anabilim Dalı’na K2-EDTA’lı tüplerde gönderilen numuneler 2-8 °C’de en

fazla 3 gün bekletildikten sonra mutasyon analizi yapıldı. Ayrıca aynı hastalardan alınan kanlardan serum kısmı ayrılarak diğer parametrelerin çalışılması için -80 °C’de saklandı.

6.1.3. Kullanılan Cihazlar, Kimyasallar ve Kitler

- 1) Hormon analizörü (Immolute 1000, Siemens, USA)
- 2) Hormon analizörü (Immolute 2000, Siemens, USA)
- 3) TNF- α kiti (DPC, Los Angeles, USA)
- 4) IL-1 β kiti (DPC, Los Angeles, USA)
- 5) IL-6 kiti (DPC, Los Angeles, USA)
- 6) IL-8 kiti (DPC, Los Angeles, USA)
- 7) IL-10 kiti (DPC, Los Angeles, USA)
- 8) HsCRP kiti (Siemens Healthcare Diagnostics, UK)
- 9) Hibridizasyon cihazı (Profiblot T48, Tecan)
- 10) Thermal Cyclers (Applied Biosystems, 2720)
- 11) Kuru ısı bloğu (Labnet AccuBlock D1100)
- 12) Santrifüj (Labnet Spectrofuge 16M)
- 13) Mikropipetler (Thermo)
- 14) FMF Strip Assay PCR ve hibridizasyon kiti (Vienna Lab)(Lysis çözeltisi, GenXtract Resin, Wash A, Wash B, Hibridizasyon buffer, Color developer, Conjugate solution, Taq dilution buffer, Amplification mix, DNAT)
- 15) Elektroforez sistemi (Biorad , Midi)
- 16) Güçkaynağı (Macro-Active Plus MP-3000, China)
- 17) Taq DNA polimeraz (Fermentas)
- 18) Ethidium Bromide (EtBr)
- 19) TBE (Tris-borik asit-EDTA) tamponu (Fermentas)
- 20) Agaroz (Prona Agarose, European Economic Community)
- 21) Eppendorf tüp (0.2 ve 1.6 ml, Neptune)
- 22) Filtreli mikropipet uçları (Neptune)
- 23) Yükleme boyası
- 24) Mikrodalga fırın (Blue Line)
- 25) Derin dondurucu: New Brunswick Scientific U570-86 Seri no 1004-8714-1207
England
- 26) Vorteks (Labnet vortex mixer)

6.2. Yöntem

6.2.1. MEFV gen mutasyonu tayini

6.2.1.1. DNA izolasyonu:

Kan örnekleri, Lysis çözeltisi ve GENXTRACT Resin'in oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Sonra sırasıyla;

1) 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj sonrası buffy coat (DNA elde etmek için kullanılan, daha çok lökositten ve trombositten zengin ince tabaka kısmı)'dan 1.5 ml'lik tüplere 100µl kan örnekleri pipetlendi.

2) Üzerlerine 1 ml Lysis çözeltisi eklendi. Tüplerin kapakları kapatılarak birkaç kez alt-üst edilerek karıştırıldı.

3) 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

4) Tüpler 5 dakika 3000 rpm'de santrifuj edildi.

5) Üst fazda kalan supernetan (yaklaşık 1 ml) atıldı.

6) Tüplerin üzerine 1 ml Lysis çözeltisi eklendi ve kapakları kapatıldı. Birkaç kez alt-üst edilerek karıştırıldı.

7) Tüpler 5 dakika 12.000 rpm'de santrifuj edildi.

8) Tüplerin dibinde yaklaşık 50 µl pellet kalana kadar üst faz atıldı.

9) GENXTRACT Resin birkaç kez alt-üst edilerek karıştırıldı.

10) Kalan pelletler üzerine 200 µl GENXTRACT Resin eklendi. Tüpler kapatılarak 10 sn. vortekslendi.

11) Tüpler 20 dakika 56 °C'de inkübe edildi ve 10 sn. vortekslendi.

12) Tüpler 10 dakika 98 °C'de inkübe edildi ve 10 sn. vortekslendi.

13) Tüpler 5 dakika 12.000 rpm'de santrifuj edildi. DNA içeren üst faz eppendorf tüplere alındı ve 2-8 °C'de saklandı.

6.2.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

MEFV geninin ilgili bölgelerinin çoklu (multipleks) amplifikasyonu için Vienna Lab FMF PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. DNA örnekleri PCR aşamasından önce 98°C'de 10 dakika bekletildi ve buz üzerine alındı. PCR karışımı hazırlıkları buz kalıbı üzerinde yapıldı. PCR karışımı şu bileşenlerden oluşmaktadır:

Amplifikasyon karışımı: 15 µl

Taq DNA polimeraz seyreltici tampon: 4,8 µl

Taq DNA polimeraz: 0,2 µl

Kalıp DNA: 5 µl

Toplam hacim: 25 µl şeklinde hazırlandı.

Multipleks PCR koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı.

94°C'de.....2dk (ilk denaturasyon)

94°C'de.....15sn (denaturasyon)

58°C'de.....30sn (bağlanma)

72°C'de.....30sn (uzama)

72°C'de.....3dk (son uzama)

35 döngüden sonra elde edilen PCR ürünleri %3'lük agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi.

6.2.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi:

Hibridizasyon işleminden önce, elde edilen PCR ürünleri (5 µl) %3'lük agaroz jel elektroforezinde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. MEFV geninin amplifiye edilen 4 bölgesinin (2, 3, 5 ve 10. eksonlar) dansitometrede UV ışık altında görülmesi, amplifikasyonun başarısı lehine yorumlandı. Daha sonra amplifikasyonla elde edilen PCR ürünlerinden 10 µl'si revers hibridizasyon analizi için kullanıldı.

Agaroz jel hazırlanması: 1.2 gr agar üzerine %10'luk 40 ml TBE tamponu eklendi. Mikrodalga fırında 1 dakika ısıtıldı. Üzerine 2 µl etidium bromür eklenip karıştırıldı ve soğutuldu.

6.2.1.4. Revers-Hibridizasyon:

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

Revers-Hibridizasyon basamakları ve kullanılan solusyonlar:

Çalışmaya başlamadan önce Hibridizasyon Solüsyonu ve Yıkama Solüsyonu A (Wash Solüsyon A), cihaz içindeki sıcak blok üzerine yerleştirildi. Cihazda Viennalab ürünleri için uygun program seçilerek cihaz 45°C'ye kadar ısıtıldı. Diğer solüsyonlar oda sıcaklığında bekletilerek ısıtıldı.

1) Strip üzerindeki proplar ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon: Cihazın örnek yükleme bölgesine (trey) yüklenen 10 µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10 µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi. Strip, tray (tepsi)'e yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın tray bölümünde 45°C sıcaklıkta (yaklaşık) 1 ml hibridizasyon tamponu ile 20 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

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

3) Renk oluşumu: Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15 dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalen fosfatazın, biyotin işaretli hibrit DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı. Konjugat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10, 5 ve 5 dakikalık üç yıkama periyodunda temizlendi.

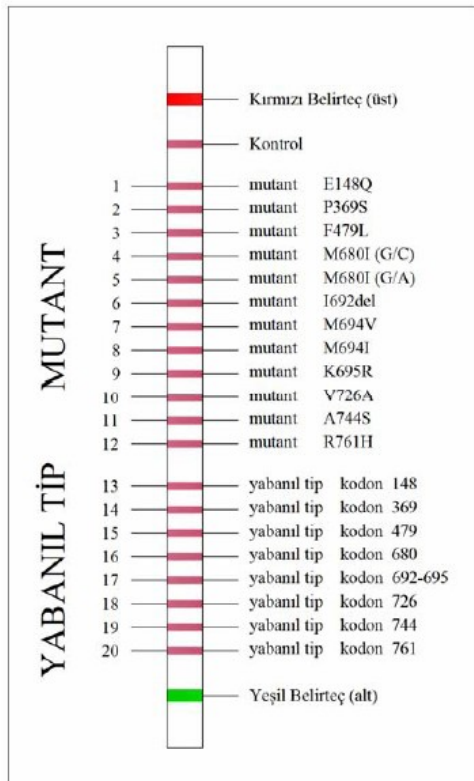
Strip üzerindeki hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortama alkalen fosfatazın substratı olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfattan (BCIP) oluşan renk geliştiriciden (color developer) 1 ml eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk inkübasyon yapıldı. Strip son olarak distile su ile yıkandı. Kâğıt şerit, havlu ile kurutulduktan sonra değerlendirildi.

6.2.1.5. Striplerin değerlendirilmesi:

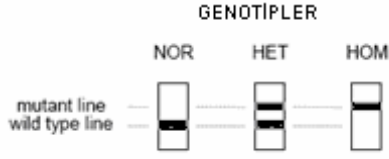
Hibridizasyon sonrası striplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bandının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmadı. Ayrıca her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç

bulunmaktadır. Bu belirteçlerden kırmızı olanı yukarı ve yeşil olanı aşağı gelecek şekilde şablon üzerine yerleştirilerek strip değerlendirilir.

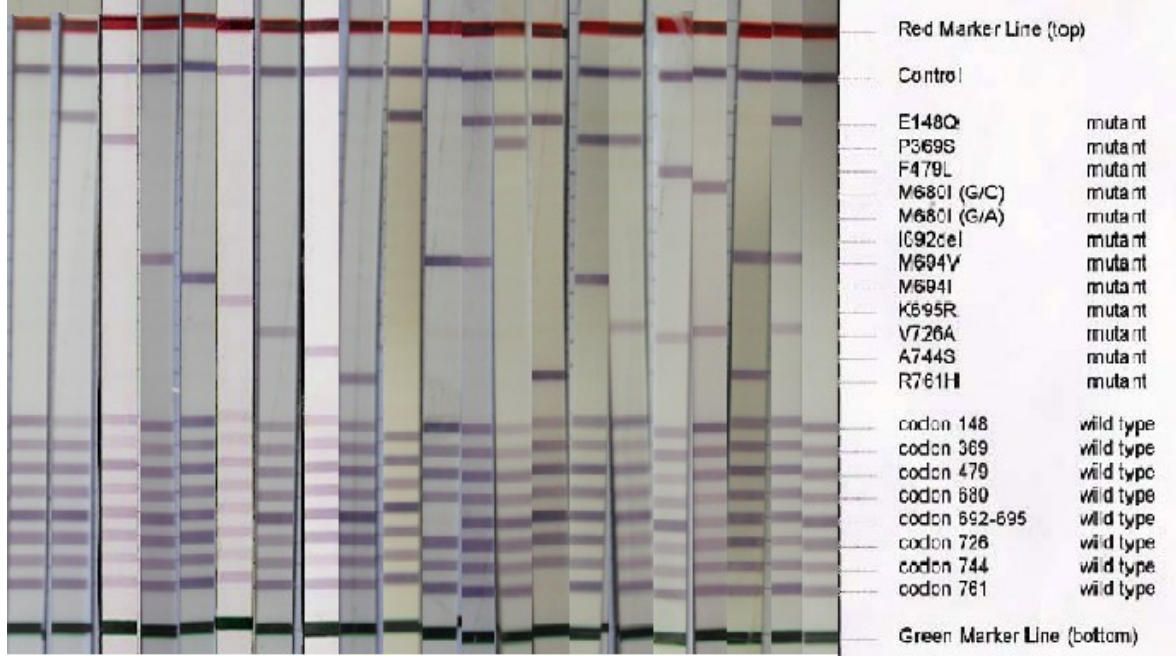
Kullanılan striplerin görünümü şekil 9'daki gibidir. Yabanıl tip gen bölgelerine (wild type line) ait 8 prob stripin alt kısmında, mutant gen bölgelerine ait 12 adet prob ise stripin üst kısmında görüntülenecek (sinyal verecek) şekilde düzenlenmiştir. Hibridizasyon sonrası tüm yabanıl tip bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgelerine ait bantların bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir. Mutant gen bölgelerine ait bantlardan birinden sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabanıl tip kodonuna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Şekil 10'da görüldüğü gibi, mutant gen bölgelerinden sinyal alınmayıp sadece yabanıl tip gen bölgelerinden sinyal alınıyorsa **normal** olarak değerlendirilir. Mutant gen bölgesiyle birlikte ilgili mutasyonun yabanıl tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon **heterozigot**, mutant gen bölgesinden sinyal alınıp, ancak ilgili mutasyonun yabanıl tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olmaması durumunda ise **homozigot** olarak değerlendirilir. Şekil 11'de çalışılan bazı hastaların strip örnekleri verilmiştir.



Şekil 9. Kullanılan stripin genel görünüşü, mutasyon ve yabanıl tip gen bölgelerinin strip üzerindeki yerleşimleri



Şekil 10: Revers hibridizasyonda genotiplendirme (NOR: Normal, HET: Heterozigot, HOM: Homozigot)



a b c d e f g h i j k l m n o p r s t u

Şekil 11. Çalışmada saptanan bazı mutasyon tipleri **a)** Normal **b)** E148Q het. **c)** P369S het. **d)** M694V het. **e)** M694I het. **f)** K695R het. **g)** V726A het. **h)** A744S het. **i)** R761H het. **j)** E148Q hom. **k)** M694V hom. **l)** E148Q/M694V com. het. **m)** E148Q/P369S com. het. **n)** E148Q/R761H com. het. **o)** P369S/M694I com. het. **p)** P369S/V726A com. het. **q)** F749L/V726A com. het. **r)** M680I (G/C)/V726A com. het. **s)** M694V/R761H com. het. **t)** E148Q/M694V/V726A com. het. **u)** Normal

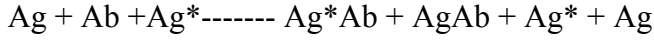
(Het: Heterozigot, Hom: Homozigot, Com. Het: Compound Heterozigot-bir hastada birden fazla mutasyon için heterozigotluk durumu)

6.2.2. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-10 tayini

Siemens Immulite 1000 cihazında aynı marka kitler kullanılarak çalışıldı. Plazma TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-10 düzeylerinin ölçümü, kemilüminesans immünometrik yöntemle gerçekleştirildi. Bu yöntemde, analit tayininde işaretleyici olarak, reaksiyona girdiğinde ışık yayan madde (kemilüminesans madde) kullanılır. Deney ortamına, ölçülmek istenen analitin antikoru, işaretli analit (antijen) ve işaretsiz analit (antijen) konur. Antikor

ile işaretli antijen kitte hazır olarak verilir. İşaretsiz antijen hasta serumunda ölçmek istediğimiz analittir.

Deney ortamında; işaretli antijenle (Ag*) işaretsiz antijen (Ag) antikora bağlanmak için yarışır.



Deney sonucunda tüp cidarına bağlı olarak Ag*Ab ve AgAb kalır. Bu kompleksteki işaretleyici olarak kullanılan kemilüminesan maddenin yaydığı ışık yoğunluğu cihazımızın Luminometresinde ölçüldü. Standart değerlerle karşılaştırılarak sonuçlar otomatik olarak hesaplandı.

6.2.3. Hs-CRP tayini

Siemens Immulite 2000 cihazında aynı marka kitler kullanılarak çalışıldı. Yüksek Duyarlıklı CRP bir katı fazlı, immünometrik kemilüminesans testtir. Solid faz (boncuk) anti-ligand ile kaplanmıştır. Likit faz ise ligand-etiketli anti-CRP murin monoklonal antikoru ve tampon içinde tavşan poliklonal anti-CRP antikoru konjuge alkalen fosfatazdan (buzağı bağırsağından elde edilmiş) oluşur.

Otomatik ön dilüsyonlu hasta örneği ile reaktif, kaplanmış boncukla 30 dakika boyunca inkübe edilir. Bu süre içinde, örnek içindeki CRP, boncuk üzerindeki anti-ligand ve ligand etiketli monoklonal murin anti-CRP antikoru ile antikor sandviç kompleksi oluşturur. Enzime konjuge poliklonal tavşan anti-CRP antikoru, daha sonra immobilize CRP'ye bağlanır. Bağlanmamış hasta örneği ve enzim konjugatı daha sonra santrifüj edilerek yıkanır ve ayrılır. Son olarak, boncuğu içeren reaksiyon tübüne kemilüminesans substrat eklenir ve bağlanan enzim miktarıyla orantılı olarak bir sinyal oluşturulur.

6.3. İstatistik Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) yapılmıştır. Varyans analizini takiben farklı grupları belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Bu değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla; gruplarda ayrı ayrı Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

7. BULGULAR

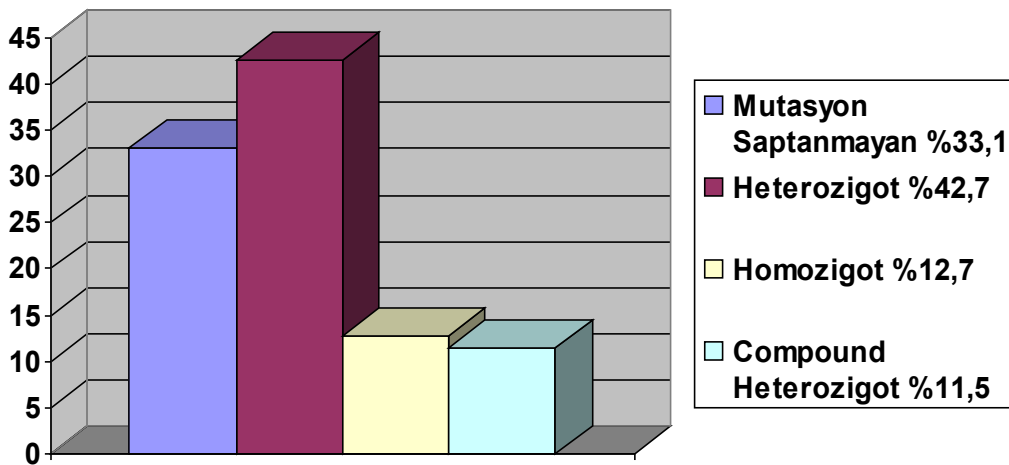
7.1. Mutasyon dağılımları

AAA tanısıyla takip edilen 157 hasta MEFV geninin 12 mutasyonu açısından tarandı. Yaş ortalamaları aktif grupta 8,98 (5-15), pasif grupta 8,82 (5-15), kontrol grubunda 8,7 (5-14) idi ve her 3 grupta yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Erkek/kız oranları aktif grupta 1,02 (41/40), pasif grupta 1,11 (40/36) ve kontrol grubunda 1,72 (19/11) idi. Hastaların 105'inde (%66.87) taranan mutasyonlardan bir veya daha fazlası saptanırken, 52 hastada (%33.13) herhangi bir mutasyon tespit edilmedi. 67 hastada heterozigot (%42,7), 18 hastada compound (birleşik) heterozigot (%11,5) ve 20 hastada homozigot mutasyonlar (%12,7) saptandı. Tüm hastalarda çalışılan mutasyonların % dağılımları şekil 12'de verilmiştir.

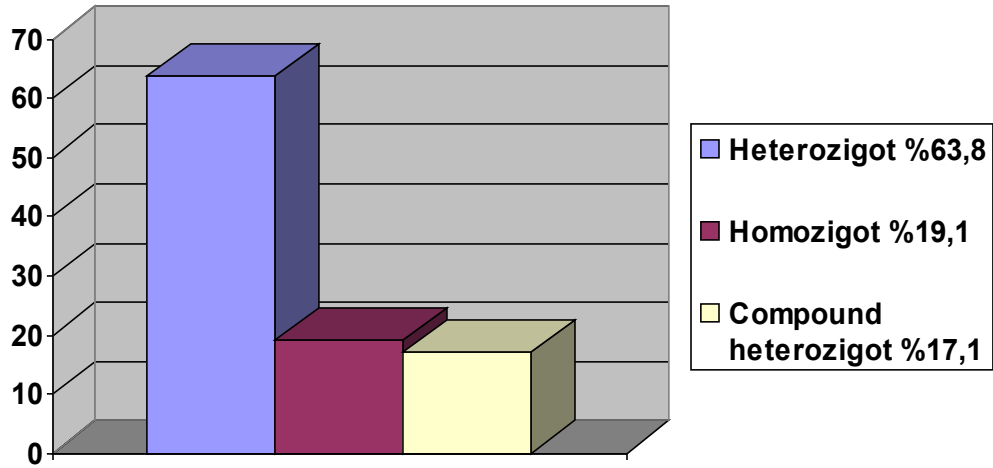
Ayrıca mutasyon saptanan hastaların % dağılımları şekil 13'te gösterilmiştir. Buna göre saptanan mutasyonların %63.8'ini heterozigot, %19.1'ini homozigot ve %17.1'ini compound heterozigot mutasyonlar oluşturdu.

E148Q heterozigot (36 hastada), M694V heterozigot (13 hastada) ve M694V homozigot (17 hastada) mutasyonları en sık gözlenen mutasyonlardı. Hastaların genotip dağılımları tablo 7'de verilmiştir.

Çalışmamız sonucunda 145 allelde mutant gen tespit edildi. En sık gözlenen alleller M694V (58 allel), E148Q (47 allel) ve V726A (17 allel) idi. Tespit edilen mutant allellerin MEFV geninin 12 mutasyonuna göre dağılımı tablo 8'de sunulmuştur.



Şekil 12: Tüm hastalarda çalışılan mutasyonların % dağılımları



Şekil 13: Mutasyon saptanan hastaların % dağılımları

Tablo 7: Hastaların genotip dağılımları

Mutasyon	Genotip	Hasta sayısı	%	
Heterozigot	E148Q / -	36	22.92	
	M694V / -	13	8.28	
	V726A / -	7	4.45	
	P369S / -	4	2.54	
	R761H / -	4	2.54	
	M694I / -	1	0.63	
	A744S / -	1	0.63	
	K695R / -	1	0.63	
	Compound Heterozigot	M694V / V726A	4	2.54
E148Q / M694V		3	1.91	
M694V / R761H		2	1.27	
E148Q / R761H		1	0.63	
E148Q / P369S		1	0.63	
F479L / V726A		1	0.63	
M680I G/A / V726A		1	0.63	
M680I G/C / V726A		1	0.63	
P369S / M694I		1	0.63	
P369S / V726A		1	0.63	
E148Q / M694V / V726A		2	1.27	
Homozigot		M694V / M694V	17	10.82
		E148Q / E148Q	2	1.27
	M694I / M694I	1	0.63	
Toplam mutasyonlu hastalar		105	66.87	
Mutasyon saptanmayan hastalar		52	33.13	
Toplam hasta sayısı		157	100	

Tablo 8: Tespit edilen mutant allellerin dağılımı

Mutasyon	Allel sayısı	%
M694V	58	40.00
E148Q	47	32.41
V726A	17	11.72
P369S	7	4.82
R761H	7	4.82
M694I	4	2.75
M680I G/C	1	0.68
M680I G/A	1	0.68
F479L	1	0.68
A744S	1	0.68
K695R	1	0.68
I692del	0	0
Toplam	145	100

7.2. Sitokinler ve CRP'ye ait bulgular

Çalışılan parametrelerin gruplara göre tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları Tablo 9'da sunulmuştur. Tablo 9'da görüldüğü gibi IL-1 β için aktif grup ile pasif grup arasında ve pasif grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Ancak aktif grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve aktif grupta IL-1 β seviyeleri daha yüksek bulundu ($p<0,005$). IL-6 için her üç grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,001$). Pasif grupta kontrol grubuna göre ve aktif grupta hem pasif hem de kontrol gruba göre daha yüksek IL-6 seviyeleri elde edildi. IL-8 için aktif ve pasif gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$); ancak bu iki hasta grubu, kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,002$). IL-10 için her üç grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). TNF- α için aktif ve pasif gruplar arasında anlamlı fark yokken ($p>0,05$); bu iki grup kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,011$). CRP için pasif grup ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yokken ($p>0,05$), aktif grup hem pasif hem de kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Her üç grupta da yaş dağılımları açısından anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 10'da aktif gruba ait parametreler arasındaki korelasyonlar verilmiştir. Bu grupta IL-6 ile IL-1 β arasında ($p<0,05$) ve TNF- α ile IL-1 β ($p<0,01$), TNF- α ile IL-6 ($p<0,05$), TNF- α ile IL-8 ($p<0,05$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Diğer parametreler arasında ise herhangi bir korelasyon belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 9: Çalışılan parametreler açısından grupların karşılaştırılması

	Aktif Grup (Grup 1, n=81)			Pasif Grup (Grup 2, n=76)			Kontrol Grubu (Grup 3, n=30)			p
	Ortalama±SS	Min	Mak	Ortalama±SS	Min	Mak	Ortalama±SS	Min	Mak	
IL-1 β	8,34±14,71 a	0,16	90,70	5,08±5,42 ab	0,13	28,60	1,25±1,65 b	0,20	8,46	0,005
IL-6	22,36±14,84 a	1,30	73,00	7,58±13,17 b	0,10	106,00	2,20±1,69 c	0,10	5,40	0,001
IL-8	17,04±18,80 a	1,90	95,70	14,06±8,56 a	1,30	55,70	6,44±5,18 b	1,30	29,60	0,002
IL-10	1,71±4,90 a	0,0	39,30	0,90±1,04 a	0,10	4,70	1,76±2,11 a	0,10	9,30	0,298
TNF- α	22,77±17,98 a	1,00	126,00	21,69±16,44 a	2,10	123,00	12,62±5,05 b	4,30	23,30	0,011
CRP	26,13±28,56 a	1,04	100,00	1,63±1,74 b	0,20	8,99	0,72±0,65 b	0,20	2,40	0,001
Yaş	8,98±2,51 a	5	15	8,82±2,90 a	5	15	8,70±2,93 a	5	14	0,876

*Aynı satırda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır.

SS: Standart sapma

Tablo 10: Aktif grupta parametreler arasındaki korelasyonlar

	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	CRP	Yaş
IL-1 β	1						
IL-6	,228*	1					
IL-8	,178	-,165	1				
IL-10	-,041	-,006	,003	1			
TNF- α	,311**	,278*	,243*	,002	1		
CRP	-,102	,122	-,069	-,009	-,036	1	
Yaş	-,120	-,044	,045	,126	,099	-,191	1

*: p<0.05, **: p<0.01

Tablo 11’de pasif gruba ait parametreler arasındaki korelasyonlar verilmiştir. Bu grupta IL-8 ile IL-1 β ve IL-10 ile IL-1 β arasında pozitif korelasyon tespit edilirken (p<0,05), diğer parametreler arasında herhangi bir korelasyon tesbit edilememiştir (p>0,05).

Tablo 11: Pasif grupta parametreler arasındaki korelasyonlar

	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	CRP	Yaş
IL-1 β	1						
IL-6	,026	1					
IL-8	,265*	,054	1				
IL-10	,287*	-,078	-,076	1			
TNF- α	,048	,033	-,014	,169	1		
CRP	,087	-,085	,008	-,027	,024	1	
Yaş	-,215	,043	-,004	-,029	-,011	,061	1

*: p<0.05

Tablo 12’de kontrol grubuna ait parametreler arasındaki korelasyonlar sunulmuş olup bu gruptaki parametreler arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı korelasyon tespit edilememiştir (p>0,05).

Tablo 12: Kontrol grubunda parametreler arasındaki korelasyonlar

	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α	CRP	Yaş
IL-1 β	1						
IL-6	-,051	1					
IL-8	-,212	-,249	1				
IL-10	-,181	,030	-,014	1			
TNF- α	,132	,208	-,251	,019	1		
CRP	-,157	,022	,197	,110	-,073	1	
Yaş	,055	-,022	,016	,098	,182	,236	1

8. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA), özellikle Türk, Arap, Ermeni ve Yahudi toplumlarında yaygın olarak görülen ve otozomal resesif olarak aktarılan otoinflamatuvar bir hastalıktır (25). Tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı gibi klinik bulgulara sahiptir (85). Tipik bir AAA atağı yaklaşık 3 gün sürer. Atakların sıklığı haftada bir kezden yılda birkaç keze kadar farklılık gösterir. AAA'nın en ciddi komplikasyonlarından biri başlıca böbrekleri etkileyen fakat diğer organları da tutabilen amiloidoz (serum amiloid A-SAA) gelişimidir. 1972'den bu yana kolşisin, AAA için tercih edilen tedavi olmuştur (28). AAA gelişiminden sorumlu olan MEFV (MEditerranean FeVer) geni 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde bulunan bir gendir. Bu gen "Pirin" ya da "Marenostrin" adı verilen 781 aminoasitlik bir proteini kodlar (33). Çeşitli çalışmalarda Türkiye'deki AAA prevalansı %0.1 dolaylarında bulunmuştur (86,87). Ege bölgesinde Denizli ilinde yapılan bir çalışmada %0.0027 bulunurken, İç Anadolu bölgesinde Sivas çevresinde yapılan bir çalışmada %0.25 oranında bulunmuştur (88,89). Ancak hafif semptomlara sahip tanı konulmamış hastaların olduğu düşünüldüğünde gerçek prevalansın daha yüksek olabileceği düşüncesindeyiz.

Geniş katılımlı Türk AAA çalışma grubu kayıtları erkek:kız oranınının 1.2:1 olduğunu göstermiştir (1). Çalışmamızda erkek:kız oranları aktif grupta 1.02:1, pasif grupta 1.11:1 ve toplam hastalar içinde 1.06:1 şeklinde olup önceki verilerle uyumludur. Dünyada 100.000'den fazla AAA hastası olduğu bildirilmiştir (90). AAA hastalarının çoğu Türkiye'den bildirilmesine rağmen, tanı konulma yaş ortalaması oldukça yüksektir (6.9 yaş). Ayrıca hastaların %19'unda apendektomi uygulanmaktadır. Oysa bu hastaların çoğu için operasyonun gerekli olmadığı düşünülmektedir (1).

AAA, MEFV gen mutasyonlarıyla yakından ilişkilidir. Moleküler alandaki ilerlemeler AAA'nın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Türkiye'de şimdiye kadar MEFV gen mutasyonlarının dağılımını araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Biz de AAA hastalarında en yaygın görülen 4 mutasyon başta olmak üzere MEFV geninin 12 mutasyonunun dağılımını inceledik. Türkiye'deki çalışmaların bazılarında en sık izlenen 4 mutasyon tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 13: Türkiye’de çeşitli çalışmalarda MEFV mutasyonları sıklıkları (% allel)

Çalışma	M694V	V726A	M680I	E148Q
İnal ve ark.(91)	70.0	11.4	10.2	5.4
Özalkaya ve ark. (92)	46.0	9.7	15.6	12.8
Paşa ve ark. (93)	39.5	13.3	10.4	16.8
Etem E. (94)	31.1	13.9	13.7	27.5
Düşünsel ve ark. (95)	72.0	5.0	14.0	4.0
Ertekin ve ark. (96)	66.6	7.9	15.8	4.7
Özdemir ve ark. (97)	43.1	11.3	15.0	20.1
Akın ve ark. (98)	47.6	12.9	11.9	16.7
Üreten ve ark. (99)	39.1	8.0	9.4	6.1
Bizim çalışmamız	40.0	11.7	0.6	32.4

Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalara göre MEFV genindeki en yaygın 4 mutasyon M694V, E148Q, M680I ve V726A’dır. Bu mutasyonların allel sıklıkları M694V için %31.1-72, E148Q için %4-27.5, M680I için %9.4-15.8 ve V726A için %5-13.9 arasındadır (Tablo 13). Çalışmamızda diğer çalışmalarda olduğu gibi en yaygın mutasyon, %40 allel sıklığına sahip olan M694V idi (Tablo 13). Türk AAA çalışma grubu verilerine göre de M694V mutasyonu %51.4 allel frekansı ile en sık görülen mutasyondur (1). Çalışmamızda ikinci en yaygın mutasyon E148Q (%32.4) idi. Bunu V726A ve P369S takip etti. Önceki çalışmaların yaklaşık yarısında E148Q, ikinci en sık allel olsa da, frekansı bizim çalışmamızda daha yüksek bulundu (Tablo 13). Bazı çalışmalarda E148Q mutasyonu en düşük penetranslı mutasyon olarak bulunmuştur. Hatta bir mutasyon değil de bir polimorfizm olabileceği öne sürülmüştür (8,86). E148Q, Iraklı hastalarda %29 prevalansla en yaygın alleldir. Lübnanlılarda ise en yaygın ikinci alleldir (100). Al-Alami ve ark. (101); Mısırlılar, Suriyeliler, Ürdünlüler, Iraklılar ve Suudilerden oluşan ve 939 sağlıklı kişiyi içeren bir grupta taşıyıcılık oranlarını göstermişler ve en yüksek taşıyıcılığı E148Q için bulmuşlardır. Bunu V726A ve M694V takip etmiştir. V726A sıklığı dünyada yaklaşık %17-20, Türkiye’de ise %3-14 arasındadır (102). Türk AAA çalışma grubunun verilerine göre V726A, %8.6 oranında izlenmiştir (1). Çalışmamızda V726A allel frekansı %11.7 olarak bulundu. Bu oran önceki çalışmalarla örtüşmektedir (Tablo 13). V726A, Arap ve Ashkenazi olmayan Yahudilerde ikinci en yaygın mutasyondur (8). V726A önceki çalışmalarda da çoğunlukla 3. sıklıkta izlenen bir mutasyondur (Tablo 13). Toutiou (8) tarafından bildirilen raporda M680I mutasyonu Türk ve Ermenilerde 2. en yaygın mutasyondur. M680I, yine Türk AAA çalışma grubu verilerine göre %14.4 oranla 2. sıradadır (1). Türkiye’de yapılan çalışmalarda %9.4-15.8 oranlarla daha çok 2. sıklıkta izlenen bir mutasyondur (Tablo 13). Diyarbakır yöresinde

yapılan bir çalışmada E148Q %30.8, M694V %18.3, P369S %10.6 ve V726A %8.6 oranlarında bulunmuştur. M680I mutasyonu Türkiye’de önceden yapılan çalışmalardan farklı olarak %6.7 oranla 5. sırada yer almıştır (103). Bizim çalışmamızda da bu mutasyonların sıralaması değişmekle birlikte, en sık izlenen ilk 4 mutasyon bu çalışmayla uyumludur. Çalışmamızda saptadığımız M680I mutasyonu %0.6 oranla 7. sırada yer almıştır. R761H mutasyonunun özellikle Türk AAA hastalarında yaygın olduğu rapor edilmiştir (104). R761H mutasyonu çalışmamızda %4.8 allel sıklığıyla 5. sırada yer almıştır.

Aynı etnik gruplarda fakat farklı bölgelerde taşıyıcılık üzerine yapılan çalışmaların farklı sonuçları bize, bölgesel çalışmaların etnik köken temelli çalışmalar kadar önemli olduğunu göstermiştir. Papadopoulos ve ark. (105)’nin 2010 yılında yayınlanan çalışması Türkiye’nin farklı bölgelerinden elde edilen birçok Türk AAA hastasında MEFV gen mutasyonlarının toplum genetiğini açıklamaktadır. Araştırmacılar yedi çalışma grubunu inceleme altına almışlar ve çalışma sonuçlarının her birini tek tek bir değeri ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar bu yedi bölgede yapılan çalışmaların birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı olduğunu ortaya koymuştur. Papadopoulos ve ark.’nın bu bulgusu Yahudiler gibi genetik olarak farklı alt grupları sergileyen diğer toplumların genetik dağılımıyla uyum içindedir (8).

Mısır’da 136 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada en sık izlenen MEFV gen mutasyonu V726A olarak bulunmuş ve bunu M694V, M680I, E148Q, M694I takip etmiştir (106). Suriye’de yapılan bir çalışmada mutasyon dağılımları M694V %36.5, V726A %15.2, E148Q %14.5 ve M680I %13.2 olarak rapor edilmiştir (107). Giaglis ve ark. (108)’nin yaptığı bir çalışmada, çeşitli Akdeniz toplumlarında yapılan MEFV mutasyon analizleri karşılaştırılmış ve en sık izlenen 5 MEFV mutasyon dağılımı tablo 14’de verilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre çoğu toplumda en sık izlenen mutasyon M694V’dir.

Bu çalışma ve hemen hemen tüm diğer çalışmalar değişik etnik gruplardaki AAA hastalarında en yaygın mutasyonun M694V olduğunu göstermiştir. Mutasyonlar, aile hikayesi, ebeveynlerdeki akrabalık, göç, toplum tipi (küçük ve kapalı tip) ve heterojen taşıyıcıların varlığı gibi toplum karakteristiklerine göre değişmektedir. Türkiye’nin farklı bölgelerindeki akraba evliliği oranlarını araştıran bir çalışmada en düşük oran Türkiye’nin batı bölgelerinde, en yüksek oran ise doğu ve güney bölgelerinde saptanmıştır (109).

Tablo 14: Çeşitli Akdeniz toplumlarında MEFV mutasyonları sıklıkları (% allel) (108)

Etnik grup (hasta sayısı)	M694V	V726A	M694I	M680I	E148Q
Yahudiler (>651)	65.0	3.0	0.0	1.0	5.0
Ermeniler (3000)	50.6	22.3	0.4	18.7	2.2
Türkler (1090)	51.6	2.9	0.4	9.2	3.6
Araplar (239)	38.0	26.0	14.0	10.0	13.0
Lübnanlılar (640)	30.3	19.4	12.8	7.4	8.3
Ürdünlüler (78)	34.6	19.2	2.6	12.8	6.4
İtalyanlar (71)	16.0	6.0	10.0	14.0	14.0
Fransızlar (>86)	5.0	v.y	5.0	v.y	7.0
İspanyollar (50)	37.0	1.0	12.5	v.y	16.0
Kıbrıslılar (34)	17.6	25.0	2.9	v.y	7.4
Yunanlılar (152)	38.1	12.2	2.7	19.7	10.9

v.y: veri yok

Hastalarımızda etnik köken belirtilmemiş olsa da Anadolu'da pek çok etnik grup vardır. Bu yüzden etnik kökene dayalı mutasyon analiz çalışmalarına ihtiyaç vardır. Türk toplumunun tamamında AAA taşıyıcılık oranı yüksektir ve Anadolu'da AAA gen mutasyon sıklığı daha da yüksek seviyede olabilir. Ulusal çalışmalar AAA'nın demografik, genetik ve klinik bulguları arasındaki ilişkiyi belirlemede ve elde edilecek bu bulgular da AAA hastalarının klinik yönetiminin daha iyi yapılmasına yardımcı olabilir. Nitekim MEFV geni ve onun çeşitli mutasyonlarının tanımlanmasının AAA hastaları ve ailelerine genetik ve tıbbi danışmanlık için bir temel sağladığı bildirilmiştir (110).

Çalışmamız MEFV gen mutasyonlarındaki heterojeniteyi desteklemiştir. Hastalarımız geniş bir mutasyon yelpazesine sahiptir. Bu durum uzun sürelerdir Doğu Anadolu'da yaşayan etnik grupların kültürler arası etkileşimini yansıtabilir.

MEFV genindeki mutasyonların hastalıktan sorumlu olduğu gösterilmişse de hastalığın patofizyolojisi bilinenden daha karmaşık görünmektedir. AAA'da T ve B hücreleri ve sitokin aktivitelerinde değişiklikleri kapsayan bazı immunolojik bozukluklar rapor edilmiştir. AAA hastalığının patogenezinde sitokinlerin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (111,112,113). Musabak ve ark. (112) AAA'lı hastalarda aktif ya da pasif dönemlerde T hücrelerinin anormal derecede aktive olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak Th1 polarizasyonunun nedeni ve hastalığın patogenezi ve klinik bulgularına katkısı tam olarak belirlenmemiştir. Th1 tip immün yanıtta proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle monosit-makrofaj grubu hücrelerin aktive olduğu belirtilmiştir. Monosit-makrofaj grubu hücrelerin yetersiz supresyonunun AAA'da proinflamatuvar sitokin ve Th1 tip aktivasyona neden olduğu öne sürülmüştür (111).

MEFV geninin nötrofildeki ekspresyonuna ek olarak monosit ve eosinofilde de eksprese olduğu gösterilmiştir. Monositlerin Th1 tip sitokinler (IFN- γ gibi) ya da proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β gibi) tarafından in vitro uyarılmaları sonucu MEFV geni ekspresyonu artarken, Th2 tip sitokinler (IL-4, IL-10, TGF- β) tarafından ekspresyonu azalır (114). Centola ve ark. (114) IFN- γ , TNF ve LPS gibi proinflamatuvar aktivatörlerin MEFV gen ifadesini artırdığını ve bunun Th1 aracılı yanıtta önemli bir yere sahip olabileceğini ortaya koymuşlardır. Bu araştırmacılar proinflamatuvar ataklar sırasında MEFV geninin Th1 duyarlılığını negatif feed-back ile inhibe ettiğini ve AAA'nın patofizyolojik bulgularının bu inhibitör aktivitedeki defektin sonucu olduğunu öne sürmüşlerdir. Dolayısıyla MEFV geni fonksiyonunun Th1 sitokinleri ya da proinflamatuvar mediatörleri inhibe etmek olduğunu ve AAA'da altta yatan mekanizmanın sitokin/MEFV gen ifadesi seviyelerindeki dengesizliğe bağlı olduğu belirtilmiştir (4).

Oluşan mutasyonlar sonucu AAA hastalarında, MEFV gen ifadesinin azalmış olduğu iyice belgelenmiştir (115). MEFV geninin ürünü olan pirin proteininin, aktive nötrofillerin inaktivasyonunu sağlayarak inflamatuvar yolakta düzenleyici bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (113,116). Pirin-/- mutant farelerde yapılan bir çalışmada yabancı-tip pirinin kaspaz-1'in proteolitik aktivasyonunu inhibe ederek IL-1 β parçalanmasını regüle ettiği ileri sürülmüştür. İleri sürülen bu mekanizmaya göre, ASC (Apoptosisle ilişkili CARD içeren speck protein, CARD: Kaspaz toplama alanı) proteini, pro-kaspaz-1 ile birleşerek inflamazom denilen bir kompleks oluşturur. Bu makromoleküler kompleks, ön yangı sitokinlerinin varlığında pro-kaspaz-1'i [IL-1 β yarıklayıcı enzim, IL-1 β converting enzyme (ICE)] aktive eder. Oluşan aktif kaspaz-1, IL-1 β 'nın bir bölümünü kırarak ateş ve yangı aracısı olan aktif forma dönüştürür. Pirin bu metabolik yolda yangı önleyici sitokinlerin uyarımı ile ASC'ye bağlanır ve prokaspaz-1'in aktif hale geçmesini ve IL-1 β salınımını engeller. Mutant pirin ise ASC'ye bağlanamayacağından inflamasyonu engelleyemez (42). Böylece AAA hastalığında ortaya çıkan tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve eklem ağrısı gibi klinik belirtilerin sebebi kısmen açıklanabilir.

Başlıca kandaki monositler tarafından üretilen IL-1 β 'nın ana fonksiyonlarından biri pirojenik bir sitokin olarak görev yapmasıdır. Normalde immünolojik durumlarda, yaralanmalarda ve enfeksiyonlarda yanıt olarak üretilir. Çoğu sitokinden farklı olarak, sentezi ve salınımı sıkıca kontrol edilmektedir (117). İmmün sistem, IL-1 β 'nın aşırı üretimi durumunda IL-1 β gen transkripsiyonunun baskılanması veya IL-1 β 'nın prekürsörü olan pro-IL-1 β 'nın olgun ürüne dönüşümünün engellenmesi gibi çeşitli mekanizmalara sahiptir

(118). Pirin ve özellikle CARD proteinlerini içeren çeşitli proteinlerin kaspaz 1'e müdahalesiyle ya da doğrudan kaspaz 1 aktivitesinin nötralizasyonu ile IL-1 β üretimini düzenlediğine inanılmaktadır (45,119,120).

[Mege](#) ve ark. (121) ile Gang ve ark. (122)'nin yaptığı iki ayrı çalışmada IL-1 β için, pasif grupla kontrol grubu ve aktif grupla pasif grup arasında, bizim çalışmamızda olduğu gibi anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak bizim çalışmamızda aktif grupta IL-1 β seviyeleri kontrol grubundan anlamlı oranda daha yüksekti. Bu bulgu, pirin proteininin inflamasyon durumunda IL-1 β oluşumunu azalttığı, mutant pirinin ise bu fonksiyonu gerçekleştirmediği görüşünü desteklemektedir.

IL-6 otoimmün ve otoinflamatuar hastalıklarda doku hasarına yanıtta başlıca mediatör olarak kabul edilmektedir (123). Hasar gören ya da IL-1 veya TNF- α tarafından uyarılan hücrelerden salınan multifonksiyonel bir sitokindir (113). IL-6, B hücrelerinin plazma hücrelerine maturasyonunu ve multipotent hematopoetik progenitörlerin stimülasyonunu indüklemektedir. Aynı zamanda doku hasarı veya inflamasyonda akut faz reaktanlarının major indükleyicisi olarak rol oynamaktadır (124). AAA atakları sırasında IL-6'nın arttığı iyi bilinmektedir (125). IL-6'daki yükselme AAA'ya spesifik değildir. Hiper IgD sendromu gibi diğer periyodik ateş sendromlarında da yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-1Ra, sTNFr p55 ve IL-10 seviyeleri AAA'lı ve Hiper IgD sendromlu hastalarda atak sırasında araştırılmış ve IL-1 α , IL-1 β , IL-10 seviyelerinde bir yükselme gözlenmezken diğerleri yüksek bulunmuştur (126).

Yapılan çeşitli çalışmalarda aktif, pasif ve kontrol gruplarında IL-6 seviyeleri karşılaştırılmıştır. Hemen hemen tüm çalışmalarda aktif gruptaki IL-6 seviyeleri pasif ve/veya kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur (113,122,127,128,129,130,131). Ayrıca bazı çalışmalarda IL-6 seviyelerinde pasif grupta da kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik gözlenmiştir (127,130,131,132). Celkan ve ark. (133), yeni tanı alıp kolşisin tedavisi almayan hastalarda IL-6 seviyesinin tedavi alanlara ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çolak ve ark. (124) ile Mege ve ark. (121)'nin yaptıkları çalışmalarda ise kontrol ve pasif gruplar karşılaştırılmış, ancak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bağcı ve ark. (130) AAA'da pasif dönemde de IL-6'da artış olduğunu göstermişler ve bu durumu hastalarda pasif dönemde de sitokin aktivasyonunun devam ettiği şeklinde yorumlamışlardır. Çalışmamızda, pasif grupta kontrol grubuna göre ve aktif grupta hem pasif hem de kontrol gruba göre anlamlı olarak daha yüksek IL-6 seviyeleri elde edildi. Hem pasif hem de aktif gruplardaki bu

önemli artış IL-6'nın AAA'da en önemli mediatörlerden biri olduğunu desteklemektedir. Ayrıca pasif dönemde IL-6'daki artış, sitokin aktivasyonunun aktif dönemdeki kadar olmasa da devam ettiği görüşünü desteklemektedir.

IL-8, dokularda lökosit göçünü ve lökosit-endotel adezyonunu düzenleyerek AAA patogenezinde önemli bir rol alan kemotaktik bir sitokindir (9). Başlıca makrofajlardan sentezlenir (124). Direskeneli ve ark (134) AAA hastalarında aktif, pasif ve kontrol gruplarında IL-8 seviyelerini karşılaştırmışlar, aktif grupta kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik tespit etmişlerdir. IL-8 ile birlikte SICAM-1 düzeylerinin ölçüldüğü bu çalışmada araştırmacılar pasif dönemde de subklinik inflamasyonun devam ettiğini belirtmişlerdir. Çolak ve ark. (124) ile Kiraz ve ark. (132), kontrol ve pasif gruplarda IL-8 seviyelerini karşılaştırmış ve pasif grupta anlamlı yükseklik gözlemişlerdir. Manukyan ve ark. (127) aktif, pasif ve kontrol gruplarında; Mege ve ark. (121) ise pasif ve kontrol gruplarında IL-8 seviyelerini karşılaştırmış ancak gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edememişlerdir. Çalışmamızda IL-8 için aktif ve pasif gruplar arasında anlamlı fark yokken, bu iki hasta grubunun IL-8 seviyelerinin kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. IL-8'in aktif ve pasif dönemlerdeki bu yüksekliği inflamasyonda IL-8'in rolü olabileceğini ve pasif dönemde subklinik inflamasyonun devam edebileceğini düşündürmektedir.

IL-10, Th1 hücrelerden inflamatuvar sitokin sentezini azaltır ve makrofaj fonksiyonlarını, NK hücrelerini, periferik kandaki mononükleer hücreleri ve Th1 hücrelerini inhibe eder (135,136). IL-10 gen defektli farelerde, kronik inflamatuvar hastalıkların geliştiği ve inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretiminin olduğu gösterilmiştir (137). IL-10 doku hasarına neden olan inflamatuvar yanıtı sınırlandırarak immün yanıtta kilit rol oynar. Özellikle gastrointestinal sistemde immün sistem homeostazının sağlanması için esansiyeldir (138). Ayrıca TNF- α , IL-1 ve IL-6 üretimini inhibe eder, IL-1 reseptör antagonisti üretimini ise artırır (113). IL-10, bir Th2 sitokini olarak bilinmesine rağmen çeşitli hücreler tarafından üretilmektedir. Fakat çoğu inflamatuvar hastalıklarda üretimin ana kaynağı monositik hücrelerdir (139). Keşfedildiğinden bu yana 20 yıldır yoğun bir şekilde üzerinde çalışılıyor olmasının nedeni IL-10'un güçlü bir immünomodülatör olmasından kaynaklanmaktadır (138). IL-10 en büyük etkisini başta makrofajlar olmak üzere antijen sunan hücreler üzerinden gerçekleştirir (73).

Şimşek ve ark. (111) ile Baykal ve ark. (113) aktif, pasif ve kontrol gruplarında IL-10 seviyelerini ölçmüş ve gruplar arasında anlamlı fark gösterememişlerdir. Musabak ve

ark. (112) pasif dönemde aktif ve kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük seviyeler tespit etmişlerdir. Bazı çalışmalarda ise aktif ve/veya pasif gruplarda anlamlı yükseklik izlenmiştir (127,130,140). IL-10 ölçümlerinde çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar alınmasının, 24-72 saatte kendini sınırlayan ataklar sırasında farklı zamanlarda örnekleme yapılmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (48,141). Çalışmamızda IL-10 açısından her üç grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Dolayısıyla AAA'da inhibitör role sahip olan IL-10 seviyelerinin AAA'da artmamasının, inflamasyon artışında rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Örün ve ark. (9) yaptıkları bir çalışmada TNF- α düzeylerinde atakla beraber artış olduğunu göstermişlerdir. Bu artış hem tedavi alan hem de almayan hasta gruplarında saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı artışın, tedavi alan hasta grubunda olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlara göre araştırmacılar kolşisin tedavisi alan hastaların atak sırasında TNF- α düzeylerinde belirgin artış olmasından yola çıkarak, atak kliniğinin ancak daha yüksek TNF- α düzeyleri varlığında gerçekleşebileceğini öne sürmüşlerdir. Dolayısıyla AAA hastalarında TNF- α 'nın, atak sırasında gelişen inflamasyon kaskadında ve ataksız dönemde subinflamasyonun oluşumunda önemli bir sitokin olduğunu belirtmişlerdir.

TNF- α salınımı endotoksin, inflamatuvar mediatör veya sitokinler tarafından uyarılan bir polipeptiddir. IL-6 ile sinerjik etki gösterir (113). Nötrofil aktivasyonu için önemli bir mediatördür. Kronik infeksiyöz veya malign hastalıklarla ilişkili kaşekside, septik şokta ve graft versus host hastalığında majör role sahiptir (124). TNF- α , akut inflamasyonda Th hücrelerinin aktivasyonunu artırır (9).

Baykal ve ark. (113) aktif, pasif ve kontrol gruplarında TNF- α düzeylerini ölçmüşler, aktif grupta kontrol ve pasif gruplara göre anlamlı yükseklik tespit etmişlerdir. Bazı çalışmalarda ise gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir (121,127). Çalışmamızda TNF- α için aktif ve pasif gruplar arasında anlamlı fark yokken, bu iki grup kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti.

AAA'da pasif dönemde kontrol grubuna göre dolaşımdaki lökositlerdeki transkripsiyon seviyelerine bakılarak, IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α 'nın ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir (4). Bu durumda, remisyonda sitokinlerin transkripsiyonel yolağının yanlış düzenlendiğini ve ataklar arasında hastaların subklinik bir inflamasyona maruz kaldığı hipotezini desteklediği görünmektedir (4). Aynı şekilde Kiraz ve ark. (132) IL-6, IL-8 ve TNF- α düzeylerini pasif dönemdeki AAA hastalarında kontrol grubuna göre

daha yüksek bulmuşlar ve bu artmış seviyelerin remisyonda devam eden inflamasyonun varlığını yansıttığını ileri sürmüşlerdir. Gang ve ark. (122) aktif ve pasif dönemlerde TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerini ölçtükleri çalışmalarında AAA'da atak sırasında sitokin ağının aktive edildiğini ve IL-6'nın atak gelişiminde önemli bir role sahip olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmamızda kontrol grubunda ölçtüğümüz sitokin parametreleri arasında herhangi bir korelasyon gözlenmezken, aktif grupta IL-6 ile IL-1 β , TNF- α ile IL-6, IL-1 β ve IL-8 arasında, yine pasif grupta IL-1 β ile IL-8 ve IL-10 arasında pozitif korelasyon bulunması AAA'nın patogenezinde sitokinlerin rolünü desteklemektedir.

CRP ve ESR akut faz yanıtının izlenmesi için en sık kullanılan parametrelerdir (142). AAA hastalarında CRP ölçümlerinin yapıldığı hemen hemen tüm çalışmalarda aktif grupta anlamlı yükseklik tespit edilmiştir. Bu çalışmaların bazılarında aktif grupta pasif gruba göre anlamlı yükseklik gözlenirken (113,129,130), bazı çalışmalarda pasif grupta da kontrole göre anlamlı yükseklik bulunmuştur (111,124,127). Çalışmamızda, aktif grup hem pasif hem de kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekken, pasif grup ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu.

Sonuç olarak, bu çalışmada, hastaların %42,7'sinde heterozigot, %11,5'inde birleşik heterozigot ve %12,7'sinde homozigot olmak üzere toplam %66,8'inde mutasyon saptandı. E148Q heterozigot (%22,9), M694V homozigot (%10,8) ve M694V heterozigot (%8,2) mutasyonları en sık izlenen mutasyonlardı. En sık tespit edilen alleller ise M694V (%40,0), E148Q (%32,4) ve V726A (%11,7) idi. Bu sonuçlar MEFV gen mutasyonlarındaki heterojeniteyi desteklemiş ve hastalarımızın geniş bir mutasyon yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca çalışmamızda IL-6, IL-8, TNF- α ve CRP düzeylerinin aktif dönemde yüksek bulunması bu parametrelerin, akut atak tanısı ve tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılabileceklerini düşündürmektedir. Yine pasif dönemde IL-6, IL-8 ve TNF- α düzeylerinin yüksek saptanmış olması, hastaların klinik olarak şikayetlerinin olmamasına rağmen bu dönemde subklinik inflamasyonun devam ettiği görüşünü desteklemektedir. Ancak AAA'da inflamatuvar aktivite ve patogenetik kaskad mekanizmaları henüz tam olarak bilinmediğinden, özellikle tanı ve tedaviye yanıtın izlenmesinde sitokin düzeylerinin kullanılabilmesi açısından, AAA akut atağı patogenezindeki sitokinler arası etkileşim üzerine daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

9. KAYNAKLAR

1. Turkish FMF Study Group, 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.: Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study, *Medicine (Baltimore)*; 84(1):1-11, 2005.
2. The International FMF Consortium: Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever, *Cell*; 90:797-807, 1997.
3. The French FMF Consortium: A candidate gene for familial Mediterranean fever, *Nat Genet.*; 17:25-31, 1997.
4. Notarnicola C., Didelot MN., Seguret F., Demaille J., Touitou I.: Enhanced cytokine mRNA levels in attack-free patients with familial Mediterranean fever, *Genes Immun.*; 3(1):43-5, 2002.
5. Haznedaroğlu S., Ozturk MA., Sancak B., Goker B., Onat AM., Bukan N., Ertenli I., Kiraz S., Calguneri M.: Serum IL 17 and 18 levels in familial Mediterranean fever, *Clin Exp Rheumatol.*; 23(38):77-80, 2005.
6. Grateau G.: Clinical and genetic aspects of the hereditary periodic fever syndromes, *Rheumatology*; 43: 410-415, 2004.
7. Ergüven M., Üçel R., Cebeci N., Pelit M.: Ailevi Akdeniz Ateşi'nin demografik, klinik ve genetik özellikleri ile tedaviye yanıtı: 120 vakalık tek merkez deneyimi, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 49:283-290, 2006.
8. Touitou I.: The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations, *Eur J Hum Genet.*; 9:473-83, 2001.
9. Örün E., Yalçinkaya F., Özkaya N., Akar N., Gökçe H.: Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığında akut faz yanıtı ile tümör nekrozis faktör- α , interlökin-8 ve interlökin-6 düzeylerinin değerlendirilmesi, *AÜTF Mecmuası*; cilt 55, sayı 2, 123-128, 2002.
10. Onen F.: Familial Mediterranean fever, *Rheumatol Int.*; 26:489-96, 2006.
11. Doğan Demir A., 'Çocukluk Çağı Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklerin Belirlenmesi ve Bu Özelliklerle Sık Görülen Mutasyonlar Arasındaki İlişkilerin Araştırılması', Uzmanlık Tezi, İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul, 2007.

12. Ben-Chetrit E., Touitou I.: Familial Mediterranean Fever, *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*.; 61 (10):1447-1453, 2009.
13. Kavak US., Özen S.: Ailesel Akdeniz Atesi, Hacettepe Ü. Tıp Fak. Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nefroloji Ün.; 12, 4,137, 2003.
14. Bakkaloglu A.: Familial Mediterranean Fever, *Pediatr Nephrol.*; 18(9): 853-9, 2003.
15. Ben-Chetrit E., Levy M.: Familial Mediterranean Fever, *Lancet*; 351: 659-664, 1998.
16. Pay S., Turan M., Simsek I.: Prevalance of Familial Mediterranean Fever in young Turkish men, *Clin Exp Rheumatol.*; 18:292, 2000.
17. Erdoğan Ö., Öner A., Ailevi Akdeniz ateşi, *T.Klin Pediatri*;11:160-170, 2002.
18. Kosan C.: Ailevi Akdeniz atesine tanısai yaklasım, *AÜTD.*; 35:1-6, 2003.
19. Chen X., Fischel-Ghodsian N., Cercek A., Hamon M., Ogur G., Lotan R., Danon Y., Shohat M.: Assessment of pirin gene mutations in Turks with familial Mediterranean fever(FMF),*Hum Mutat*; 11: 456-60, 1998.
20. Orbach H., Ben-Chetrit E.: Familial Mediterranean fever a review and update, *Minerva Med.*; 92:421-30, 2001.
21. Lachmann H.J., Şengül B., Yavuzşen TU., Booth DR., Booth SE., Bybee A., Gallimore JR., Soytürk M., Akar S., Tunca M., Hawkins PN.: Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations, *Rheumatology*; 45, 746-750, 2006.
22. Mantzer Y., Brzezinski A.: C5a inhibitor deficiency in peritoneal fluids from patients with familial Mediterranean fever, *N Engl J Med.*; 311: 287-90, 1984.
23. Koklu S., Ozturk MA., Balci M., Yuksel O., Ertenli I., Kiraz S.: Interferongamma levels in familial Mediterranean fever, *Joint Bone Spine*; 72:38-40, 2005.
24. Aringer M.: Periodic fever syndromes: a clinical overview, *Acta Medica Austriaca*; 31(1): 8-12, 2004.
25. 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.*; 40:1879-1885, 1997.
26. Livneh A., Langevitz P., Diagnostic and treatment concerns in familial Mediterranean fever, *Bailleres Best Pract Res Clin Rheumatol.*; 14:477-498, 2000.
27. Simon A., Van Der Meer J.W.M., Drenth J.P.H.: Ailesel Otoinflamatuvar Sendromlar, *Kelley Romatoloji*, Harris E.D., Budd Jr R.C., Firestein G.S., Genovese M.C., Sergeant J.S., Ruddy S., Sledge C.B, 7. Baskı, 1773-1788, Güneş Kitabevi, Ankara,

- 2006.
28. Goldfinger SE.: Colchicine for familial Mediterranean fever, *N Eng J Med.*; 287:1302, 1972.
 29. Ozkan E., Okur O., Ekmekci A., Ozcan R., Tag T.: A new approach to the treatment of periodic fever, *Med Bull İstanbul.*; 5:44-49, 1972.
 30. Bodar EJ., Drenth JP., van der Meer JW., Simon A.: Dysregulation of innate immunity: hereditary periodic fever syndromes, *Br J Haematol.*; 144: 279-302, 2009.
 31. Mansfield E., Chae JJ., Komarow HD., Brotz TM., Frucht DM., Aksentijevich I., Kastner DL.: The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments, *Blood*; 98: 851-859, 2001.
 32. Tankurt E., Tunca M., Akbaylar H., Gonen O.: Resolving familial Mediterranean fever attacks with interferon alpha, *Br J Rheumatol.*; 35(11):1188-9, 1996.
 33. Haddad JJ.: The role of inflammatory cytokines and NF kappaB/MAPK signaling pathways in the evolution of familial Mediterranean fever: current clinical perspectives and potential therapeutic approaches, *Cell Immunol.*; 260(1):6-13, 2009.
 34. Infevers, Editör in chief: Isabelle Touitou, The registry of Hereditary Auto-inflammatory Disorders Mutations, <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/stats.php?n=1&graph=alteration> Accessed on: January, 7, 2011.
 35. Infevers, Editör in chief: Isabelle Touitou, The registry of Hereditary Auto-inflammatory Disorders Mutations, <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/schema.php?n=1> Accessed on: January, 7, 2011.
 36. Kogan A., Shinar Y., Lidar M., Revivo A., Langevitz P., Padeh S., Pras M., Livneh A.: Common MEFV mutations among Jewish ethnic groups in Israel: High frequency of carrier and phenotype III states and absence of a perceptible biological advantage for the carrier state, *American Journal of Medical Genetics*; 102, 272-276, 2001.
 37. 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*; 8, 307-310, 2000.
 38. Ritis K., Giaglis S., Spathari N., Micheli A., Zonios D., Tzoanopoulos D., Deltas CC., Rafail S., Mean R., Papadopoulos V., Tzioufas AG., Moutsopoulos M, Kartalis G.: Non-isotopic RNase cleavage assay for mutation detection in MEFV, the gene

- responsible for familial Mediterranean fever, in a cohort of Greek patients, *Annals of the Rheumatic Diseases*; 63, 438-443, 2004.
39. Cazeneuve C., Sarkisian T., Pecheux C., Dervichian M., Nedelec B., Reinert B., Ayvazyan A., Kouyoumdjian JC., Ajrapetyan H., Delpech M., Goossens M., Dodé C., Grateau G., Amselem S.: MEFV gene analysis in Armenian patients with Familial Mediterranean Fever: Diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype- genetic and therapeutic implications, *American Journal of Human Genetics*; 65, 88-97, 1999.
 40. Sohar E., Gafni J., Pras M., Heller H.: Familial Mediterranean Fever. A survey of 470 cases and review of the literature, *Am J Med.*; 43:227-253, 1967.
 41. Hayashi A., Suzuki T., Shimizi A., Yammamara Y.: Periodic fever suppressed by reserpine, *Lancet*; 1 :592-9, 1976.
 42. Chae J.J., Wood G., Komarow HD., Raben N., Liu PP., Kastner DL.: Targeted disruption of pyrin, the FMF protein causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis, *Molecular Cell*; 11:591-604, 2003.
 43. Mukae N., Enari M., Sakahira H., Fukuda Y., Inazawa J., Toh H., Nagata S.: Molecular cloning and characterization of human caspase-activated DNase, *Proc Natl Acad Sci.*; 95:9123-9128, 1998.
 44. Druilhe A., Srinivasula SM., Razmara M., Ahmad M., Alnemri ES.: Regulation of IL-1 β generation by Pseudo-ICE and ICEBERG, two dominant negative caspase recruitment domain proteins, *Cell Death Differ.*; 8:649-57, 2001.
 45. Lee SH., Stehlik C., Reed JC.: Cop, a caspase recruitment domain-containing protein and inhibitor of caspase-1 activation processing, *J Biol Chem.*; 276: 34495-34500, 2001.
 46. Boatright KM., Salvesen GS.: Caspase activation, *Biochem Soc Symp.*; 70:233-42, 2003.
 47. Masumoto J., Taniguchi S., Sagara J.: Pyrin N-terminal homology domain and caspase recruitment domain-dependent oligomerization of ASC, *Biochem Biophys Res Commun.*; 280:652-5, 2001.
 48. Chae J.J., Wood G., Masters SL., Richard K., Park G., Smith B.J., Kastner D.L.: The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 β production, *PNAS*; 103:9982-9987, 2006.
 49. Habif S.: İnflamatuar Yanıtta Akut Faz Proteinleri, *İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Derg.*; 43 (2) : 55-65, 2005.

50. Abbas A., Lichtman AH., Pober J.S.: Cytokine In “Cellular and Molecular Immunology”, WB Saunders Company Philadelphia, 235-269, 2000.
51. Baykal Y., Karaayvaz M., Kutlu M.: İnterlökinler, T Klin J Med Sci.; 18, 1998.
52. Vılcek, The cytokines: an overview. In: The Cytokine Handbook. Eds: A.W.Thomson, M. T. Lotze. Elsevier Science Ltd, Fourth Edition, p. 3-19, 2003.
53. Güner İ., Özmen D., Bayındır O.: Sitokinler, T Klin J Med Sci.; 17, 1997.
54. Kültürsay N.: Fetal ve neonatal proenflamatuar sitokin yanıtı-perinatal beyin ve akciğer zedelenmesi ile ilişkisi, Çocuk sağlığı ve hastalıkları derg.; 46: 299-307, 2003.
55. Tuğlu C ve Kara S.H.: Depresyon, sitokinler ve bağışıklık sistemi, Klinik Psikofarmakoloji Bülteni; 13:142-150, 2003.
56. Demir N.:Kronik Hepatit C Virüs Enfeksiyonu Bulunan Hastaların Serumlarında Bazı Sitokin Düzeylerinin Eliza Yöntemiyle Araştırılması. Tez no: 225471, Ankara, 2008.
57. Abbas Abul K., Lichtman AH.: Temel İmmünoloji, “İmmün sistemin işlev ve Bozukluklar”, Ed: Camcıoğlu Y, Deniz G, Doğal Bağışıklık, Bölüm 2, 1.baskı, 25-35, İstanbul tıp kitabevi, İstanbul, 2007.
58. Rosa MS., Bienveu J., Whichen J.: Cytokines. Ch 21. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3th ed). Burtis, C.A. , Ashwood, E. D. (eds). W.B. Saunders Co, Philadelphia, p. 541-564, 1999.
59. Farina L and Winkelman C.: A Review of the Role of Proinflammatory Cytokines in Labor and Noninfectious Preterm Labor, Biological Research for Nursing; Vol. 6, No. 3, 230-238, 2005.
60. Dinarello CA.and Moldawer LL.: Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis A primer for clinicians. second edition, p. 23-82, 2000.
61. Martel-Pelletier J., Lajeunesse D., Pelletier JP.: Etiopathogenesis of osteoarthritis. In: Kopman WJ, Moreland LW (eds). Arthritis and allied conditions. A textbook of Rheumatology. 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, p. 2199-2226, 2005.
62. Dinarello C.A.: İnterleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist, Int. Rev. Immunol.; 16, 457-499, 1998.
63. Park JY. and Pillinger MH.: Interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, Bull NYU Hosp Jt Dis.; 65(Suppl 1): S 4-10, 2007.

64. Turan Y., Bal S., Karayağız S., Gürgan A.: Ankilozan Spondilit Hastalarında Serum IL-8 Düzeyi ve Hastalık Aktivitesi ile İlişkisi, ADÜ Tıp Fakültesi Derg.; 9(2):21-24, 2008.
65. Mackay C.R.: Chemokines: immunology's high impact factors, Nature Immunol.; 2: 95-101, 2001.
66. Calapoğlu M.: Alzheimer hastalığında kemokin ve kemokin reseptörlerinin rolü, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.; 16(4): 39-44, 2009.
67. Çıtak E.Ç, Karadeniz C.: Kemokinler ve Hastalıklardaki Yeri, T Klin Tıp Bilimleri; 22: 210-216, 2002.
68. Sun A., Wang JT., Chia JS., Chiang CP.: Serum interleukin-8 level is a more sensitive marker than serum interleukin-6 level in monitoring the disease activity of oral lichen planus, Br J Dermatol.; 152: 1187-92, 2005.
69. Wenzel U.O and Stahl R.A.K.: Chemokines, renal disease, and HIV infection, Nephron.; 81: 5-16, 1999.
70. Opal SM., DePalo VA.: Anti-inflammatory cytokines, Chest.;117(4):1162 -1172, 2000.
71. Oppenheim JJ., Ruscetti FW., Faltynek C.: Cytokines: Basic and Clinical Immunology. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (Eds). Appleton and Lange, Connecticut, California, Eight Edition, p:105 -123, 1994.
72. Baumann H., Wang Y., Morella KK., Lai CF., Dams H., Hilton DJ., Hawley RG., Mackiewicz A.: Complex of the soluble IL-11 receptor and IL-11 acts as IL-6- type cytokine in hepatic and nonhepatic cells, J Immunol.; 284-290, 1996.
73. Moore KW., Malefyt RW., Coffman RL., O'Garra A.: Interleukin-10 ve the Interleukin-10 receptor, Annu Rev Immunol.; 19:683-765, 2001.
74. Mocellin S., Panelli MC., Wang E., Nagorsen D., Marincola FM.: The dual role of IL-10, Trends Immunol.; 24: 36-43, 2003.
75. O'Garra A., Steinman L., Gijbels K.: CD4C T-cell subsets in autoimmunity, Curr Opin Immunol.; 9: 872-83, 1997.
76. Paris MM., Hickey S., Trujillo M., Ahmed A., Olsen K., Mc Cracken GH.: The effect of interleukin-10 on meningeal inflammation in experimental bacterial meningitis, J Infect Dis.; 176:1239-46, 1997.
77. Barrett KE.: Cytokines: sources, receptors, and signaling, Baillieres Clin Gastroenterol.; 10: 1-15, 1996.

78. Kushner I.: The phenomenon of the acute phase response, *Ann NY Acad Sci.*; 389: 39, 1982.
79. Kaylan N.: Kardiyovasküler bir risk faktörü olarak CRP, *AII Konseyi Bülten*; 9(1):1-4, 2005.
80. Ockene IS., Matthews CE., Rifai N., Ridker PM., Reed G., Stanek E.: Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults, *Clin Chem.*; 47(3): 444-50, 2003.
81. Pepys MB., Hirschfield GM.: C-reactive protein: a critical update, *J Clin Invest.*; 111: 1805-1812, 2003.
82. Duclos T.:Function of C-reactive protein, *Ann Med.*; 32:274-278, 2000.
83. Korkmaz C., Özdoğan H., Kasapçopur O., Yazıcı H.: Acute phase response in familial Mediterranean fever, *Ann Rheum Dis.*; 61:79-81, 2002.
84. Tunca M., Kirkali G., Soy Turk M., Akar S., Pepys MB., Hawkins PN.: Acute phase response and evolution of familial Mediterranean fever, *Lancet*; 24;353(9162):1415, 1999.
85. Gilles G.: The relation between familial Mediterranean fever and amyloidosis, *Curr Opin Rheumatol.*; 12:61-4, 2000.
86. Ozen S.: Familial Mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *Eur J Pediatr* 162(7-8):449-454, 2003.
87. Dinc A, Pay S, Turan M, Simsek I.: Prevalence of familial Mediterranean fever in young Turkish men, *Clin Exp Rheumatol*;18:292, 2000.
88. Cobankara V, Fidan G, Turk T, Zencir M, Çolakoglu M, Ozen S.: The prevalence of familial Mediterranean fever in the Turkish province of Denizli: a Weld study with a zero patient design, *Clin Exp Rheumatol*;22(34):27-30, 2004.
89. Onen F., Sumer H., Turkay S., Akyurek O., Tunca M., Ozdogan H.: Increased frequency of familial Mediterranean fever in Central Anatolia, Turkey, *Clin Exp Rheumatol.*; 22(Suppl 34):31-33, 2004.
90. Lidar M., Livneh A.: Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements, *J Med.*; 65:318-324, 2007.
91. Inal A., Yılmaz M., Guneser Kendirli S., Ufuk Altintas D., Bingol Karakoc G.: The clinical and genetical features of 124 children with Familial Mediterranean fever: experience of a single tertiary center, *Rheumatol Int.*; 29:1279- 1285, 2009.
92. Özalkaya E., Mir S., Sözeri B., Berdeli A., Mutlubaş F., Cura A.: Familial

Mediterranean fever gene mutation frequencies and genotype–phenotype correlations in the Aegean region of Turkey, *Rheumatol Int.*; 1383-8, 2010.

93. [Pasa S.](#), [Altintas A.](#), [Devecioglu B.](#), [Cil T.](#), [Danis R.](#), [Isi H.](#), [Bayan K.](#), [Tuzun Y.](#), [Ecer S.](#), [Batun S.](#), [Ayyildiz O.](#): Familial Mediterranean fever gene mutations in the Southeastern region of Turkey and their phenotypical features, *Amyloid.*; 15(1):49-53, 2008.
94. Etem E.:Familial mediterranean Fever: a retrospective clinical and molecular study in the East of anatolia region of Turkey, *Open Rheumatol J.*; 29;4:1-6, 2010.
95. Dusunsel R, Dursun I, Gunduz Z, Poyrazoğlu MH, Gurgoze MK, Dundar M.:Genotype-phenotype correlation in children with familial Mediterranean fever in a Turkish population, *Pediatr Int.*; 50(2):208-12, 2008.
96. Ertekin V, Selimoğlu MA, Pirim I.:Familial Mediterranean fever in a childhood population in eastern Turkey, *Pediatr Int.*; 47(6):640-4, 2005.
97. Ozdemir O., Sezgin I., Kurtulgan HK., Candan F., Koksall B., Sumer H., Icagasioglu D., Uslu A., Yildiz F., Arslan S., Cetinkaya S., Citli S., Oztemur Z., Kayatas M.: Prevalence of known mutations in the MEFV gene in a population screening with high rate of carriers, *Mol Biol Rep.*; 9991-7, 2010.
98. Akin H., Onay H., Turker E., Cogulu O., Ozkinay F.: MEFV mutations in patients with Familial Mediterranean Fever from the Aegean region of Turkey, *Mol Biol Rep.*; Jan;37(1):93-8, 2009.
99. Ureten K., Gönülalan G., Akbal E., Güneş F., Akyürek O., Ozbek M., Oztürk MA.: Demographic, clinical and mutational characteristics of Turkish familial Mediterranean fever patients: results of a single center in Central Anatolia, *Rheumatol Int.*; 30(7):911-5, 2010.
100. Sabbagh AS., Ghasham M., Abdel Khalek R., Greije L., Shammaa DM., Zaatari GS., Mahfouz RA.: MEFV gene mutations spectrum among Lebanese patients referred for Familial Mediterranean Fever work-up: experience of a major tertiary care center, *Mol Biol Rep.*; 35(3):447–451, 2008.
101. Al-Alami JR., Tayeh MK., Najib DA., Abu-Rubaiha ZA., Majeed HA., Al-Khateeb MS., El-Shanti HI.: Familial Mediterranean fever mutation frequencies and carrier rates among a mixed Arabic population, *Saudi Med J.*; 24(10):1055-9, 2003.
102. Dode C, Pecheux C, Cazeneuve C, Cattan D, Dervichian M, Goossens M, Delpech M, Amselem S, Grateau G.: Mutations in the MEFV gene in a large series of patients with a clinical diagnosis of familial Mediterranean fever, *Am. J. Med. Genet.*; 92:

241–6, 2000.

103. Evliyaoğlu O., Bilici S., Yolbas I., Kelekçi S., Sen V.: Diyarbakır yöresi Ailevi Akdeniz Atesli çocuklarda MEFV gen mutasyon sıklıkları, *Dicle Tıp Dergisi*,; 36(2):80-84, 2009.
104. Demirkaya E, Tunca Y, Gok F, Ozen S, Gul D.: A very frequent mutation and remarkable association of R761H with M694V mutations in Turkish familial Mediterranean fever patients. *Clin Rheumatol*;27(6):729–732, 2008.
105. Papadopoulos V., Mitroulis I., Giaglis S.: MEFV heterogeneity in Turkish Familial Mediterranean Fever patients, *Mol Biol Rep.*; 37:355–358, 2010.
106. El-Garf A, Salah S, Iskander I, Salah H, Amin SN.:MEFV mutations in Egyptian patients suffering from familial Mediterranean fever: analysis of 12 gene mutations, *Rheumatol Int.*; 30(10):1293-8, 2010.
107. Jarjour RA.: Familial Mediterranean fever in Syrian patients: MEFV gene mutations and genotype-phenotype correlation, *Mol Biol Rep.*; 37(1):1-5, 2010.
108. Giaglis S., Papadopoulos V., Kambas K., Doumas M., Tsironidou V., Rafail S., Kartalis G., Speletas M., Ritis K.: MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever, *Clin Genet.*; 71(5):458-67, 2007.
109. Kir T., Güleç M., Bakir B., Hosgönül E., Tümerdem N.: The frequency and effecting factors of consanguineous marriage in a group of soldiers in Ankara, *J Biosoc Sci.*; 37(4):519–523, 2005.
110. Brik R., Shinavi M., Kepten I., Berant M., Gershoni R.: Familial Mediterranean fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients, *Pediatrics*; 103: 1-4, 1999.
111. Simsek I., Pay S., Pekel A., Dinc A., Musabak U., Erdem H., Sengul A.: Serum proinflammatory cytokines directing T helper 1 polarization in patients with familial Mediterranean fever, *Rheumatol Int.*; 27(9):807-11, 2007.
112. Musabak U., Şengül A., Öktenli C., Pay S., Yeşilova Z., Kenar L., Sanıçoğlu S.Y., İnal A., Tüzün A., Erdil A., Bağcı S.: Does immune activation continue during an attack free period in familial Mediterranean fever? *Clin Exp Immunol.*; 138 :526–533, 2004.
113. Baykal Y., Sağlam K., Yılmaz MI., Taslipinar A., Akinci SB., Inal A.: Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF-a level in familial Mediterranean fever patients, *Clin Rheumatol.*; 22: 99–101, 2003.

114. 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*; 95:3223–31, 2000.
115. Notarnicola C., Didelot MN., Kone-Paut I., Seguret F., Demaille J., Touitou I.: Reduced MEFV messenger RNA expression in patients with familial Mediterranean fever, *Arthritis Rheum.*; 46:2785–2793, 2002.
116. Oktem S., Yavuzsen TU., Sengul B., Akhunlar H., Akar S., Tunca M.: Levels of interleukin-6 (IL-6) and its soluble receptor (sIL-6R) in familial Mediterranean fever (FMF) patients and their first degree relatives, *Clin Exp Rheumatol.*; 22(4 Suppl 34):34-6, 2004.
117. Dinarello CA.: Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme. *Ann NY Acad Sci*;856: 1–11, 1998.
118. Dinarello CA.: Mutations in cryopyrin: bypassing roadblocks in the caspase 1 inflammasome for interleukin-1beta secretion and disease activity. *Arthritis Rheum* 56: 2817–2822, 2007.
119. Humke EW., Shriver SK., Starovasnik MA., Fairbrother WJ., Dixit VM.: ICEBERG: a novel inhibitor of interleukin-1beta generation. *Cell* 103: 99–111, 2000.
120. Annand RR., Dahlen JR., Sprecher CA., De Dreu P., Foster DC., Mankovich JA., Talanian RV., Kisiel W., Giegel DA.: Caspase-1 (interleukin-1beta-converting enzyme) is inhibited by the human serpin analogue proteinase inhibitor 9, *Biochem J.*; 342: 655–665, 1999.
121. Mege JL., Dilsen N., Sanguedolce V., Gul A., Bongrand P., Roux H., Ocal L., Inanc M., Capo C.: Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor alpha, interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behcet's disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects, *J Rheumatol.*; 20(9):1544-9, 1993.
122. Gang N., Drenth JP., Langevitz P., Zemer D., Brezniak N., Pras M., van der Meer JW., Livneh A.: Activation of the cytokine network in familial Mediterranean fever, *J Rheumatol.*; 26(4):890-7, 1999.
123. Kitamura K., Nakamoto Y., Kaneko S., Mukaida N.: Pivotal roles of interleukin-6 in transmural inflammation in murine T cell transfer colitis, *J Leukoc Biol.*; 76:1111–7, 2004.

124. Çolak B., Gürlek B., Yeğin Z.A., Değer S.M., Elbek S., Paşaoğlu H., Doğan İ., Öztürk M.A., Ünal S., Güz G.: The Relationship between the MEFV Genotype, Clinical Features, and Cytokine-Inflammatory Activities in Patients with Familial Mediterranean Fever, *Renal Failure*; 30:187–191, 2008.
125. Gang N, Drenth J, Livneh A. Activation of the cytokine network in Familial Mediterranean Fever. In: Sohar E, Gafni J, Pras M, eds. *Familial Mediterranean Fever I. International Conference (Book)*. London: Freund Publishing House Ltd.; 193–6, 1997.
126. Drenth JP, van Deuren M, van der Ven-Jongekrijg J, Schalkwijk CG, van der Meer JW.: Cytokine activation during attacks of the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome, *Blood.*; 15;85(12):3586-93, 1995.
127. Manukyan GP., Ghazaryan KA., Ktsoyan ZhA., Tatyana MV., Khachatryan ZA., Hakobyan GS., Mkrtchyan VA., Kelly D., Coutts A., Aminov RI.: Cytokine profile of Armenian patients with Familial Mediterranean fever, *Clin Biochem.*; 41(10-11):920-2, 2008.
128. Panossian A., Hambartsumyan M., Panosyan L., Abrahamyan H., Mamikonyan G., Gabrielyan E., Amaryan G., Astvatsatryan V., Wikman G.: Plasma nitric oxide level in familial Mediterranean fever and its modulations by Immuno-Guard, *Nitric Oxide.*; 9(2):103-10, 2003.
129. Toy B., Tarçın O., Bağcı S., Üstündağ Y., İnal A., Tiftikçi A.: Serum Leptin Is not a Diagnostic Marker for Familial Mediterranean Fever Attacks Hindawi Publishing Corporation, *Mediators of Inflammation*; Article ID 62868, Pages 1-5, 2006.
130. Bağcı S., Toy B., Tuzun A., Ates Y., Aslan M., İnal A., Gulsen M., Karaeren N., Dagalp K.: Continuity of cytokine activation in patients with familial Mediterranean fever, *Clin Rheumatol.*; 23(4): 333-7, 2004.
131. [Keskin G.](#), [İnal A.](#), [Ozışık L.](#): Serum Adiponectin Levels in Patients with Familial Mediterranean Fever, [Protein Pept Lett.](#); 17(10):1258-62, 2010.
132. Kiraz S., Ertelenli I., Arıcı M., Calguneri M., Haznedaroğlu I., Celik I., Pay S., Kirazlı S.: Effects of colchicine on inflammatory cytokines and selectins in familial Mediterranean fever, *Clin Exp Rheumatol.*; 16(6):721-724, 1998.
133. Celkan T., Celik M., Kasapçopur O., Ozkan A., Apak H., Ocak S., Arisoy N., Yildiz I.: The anemia of familial Mediterranean fever disease, *Pediatr Hematol Oncol.*; 22(8):657-65, 2005.
134. [Direkseneli H](#), [Ozdogan H](#), [Korkmaz C](#), [Akoglu T](#), [Yazici H](#). Serum soluble

intercellular adhesion molecule 1 and interleukin 8 levels in familial Mediterranean fever, [J Rheumatol.](#); 26(9):1983-6, 1999.

135. Corinti S, Albanesi C, Sala A, Pastore S, Girolomoni G: Regulatory activity of autocrine IL 10 on dendritic cell functions, *J Immunol*; 166:4312–8, 2001.
136. Prakken BJ., Wendling U., van der Zee R., Rutten VPMG., Kuis W., van Eden W.: Induction of IL-10 and inhibition of experimental arthritis are specific features of microbial heat shock proteins that are absent for other evolutionarily conserved immunodominant proteins, *J Immunol.*; 167:4147–53 2001.
137. Lang R., Rutschman RL., Greaves DR., Murray PJ.: Autocrine deactivation of macrophages in transgenic mice constitutively overexpressing IL-10 under control of the human CD68 promoter, *J Immunol.*; 168:3402–11, 2002.
138. Sanjabi S., Zenewicz LA., Kamanaka M., Flavell RA.: Anti inflammatory and pro-inflammatory roles of TGF-b, IL-10, and IL-22 in immunity and autoimmunity, *Current Opinion in Pharmacology*; 9:447–453, 2009.
139. Keystone E., Wherry J., Grint P.: IL-10 as a therapeutic strategy in the treatment of rheumatoid arthritis, *Rheum Dis Clin North Am.*; 24:629–639, 1998.
140. Erken E, Ozer HT, Gunesacar R.: Plasma interleukin-10 and interleukin-12 levels in patients with familial Mediterranean fever, *Rheumatol Int.*; 26(9):862-4, 2006.
141. Ting JP., Kastner DL., Hoffman HM.: CATERPILLERS, pyrin and hereditary immunological disorders, *Nat Rev Immunol.*; 6:183–95, 2006.
142. International Committee for Standardization in Haematology, Guidelines on selection of laboratory tests for monitoring the acute phase response. *J Clin Pathol.*; 41:1203–1212, 1988.

10. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Bitlis’de doğdum. İlkokul, orta ve lise öğrenimimi Mersin’de tamamladım. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden 2004 yılında mezun oldum. 2004-2007 yılları arasında Bitlis’in Ahlat ilçesinde pratisyen olarak çalıştıktan sonra 2007 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesinde Biyokimya ABD’da uzmanlık eğitimine başladım. Evli ve iki çocuk babasıyım.