T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARININ AİLE BİREYLERİNDEKİ GEN MUTASYONLARI VE HASTALARDAKİ GEN MUTASYONLARI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Emir Faruk TEKEOĞLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Celalettin KOŞAN

ERZURUM-2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 20.03.2019 tarih ve 1900093670 sayılı yazınız.

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş.Gör.Dr. Emir Faruk Tekeoğlu' nun "Ailesel Akdeniz Ateşi Hastalarının Aile Bireylerindeki Gen Mutasyonları ve Hastalardaki Gen Mutasyonları İlişkisinin Araştırılması" konulu tezini incelemek üzere oluşturulan tez jürisine üye olarak seçildiğimizin ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, 20.03.2019 tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezi jüri üyelerince oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.

Prof. Dr. Zerrin ORBAK
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Celalettin KOŞAN
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Atilla ÇAYIR
SBÜ Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hast.
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 05.06.2017 tarihli yazısı ile "Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarının Aile Bireylerindeki Gen Mutasyonları Ve Hastalardaki Gen Mutasyonlarının Araştırılması" konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Emir Faruk Tekeoğlu tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşülmüş ve 28.09.2017 tarih ve 15 nolu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür. Çalışma Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nca 24.05.2017 tarih ve 2 sayılı oturumunun 15 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **iv**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR VE SİMGELER ..... **vii**
TEŞEKKÜR ..... **ix**
ÖZET ..... **x**
ABSTRACT ..... **xii**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) 2
2.1.1. Tanımı 2
2.1.2. Tarihçe 2
2.1.3. Epidemiyoloji 3
2.1.4. AAA' da Kliniğe Etkili Olan Çevresel Faktörler 5
2.1.5. Genetik Geçiş 5
2.1.6. Patogenez 9
2.2. Klinik Bulgular 12
2.3. Laboratuar Bulguları 16
2.4. Tanı 17
2.5. Hastalık Ağırlık Skorlaması 19
2.6. Ayırıcı Tanı 20
2.7. Genetik Tanı 21
2.8. Tedavi 22
2.9. AAA' nın Genetik Yönü 25
2.10. Mutasyon Analizinde Kullanılan Moleküler Teknikler 25
3. MATERYAL VE METOT **27**
3.1. Moleküler Analizler 28
3.1.1. Total DNA İzolasyonu 28
3.1.2. İzolasyon Protokolü 28

3.1.3. Spektrofotometride İzole Edilen DNA Örneklerinin Konsantrasyonunun Kantitatif Ölçümü 29
3.2. MEFV Geni Mutasyon Analizi 30
3.2.1. PCR ile MEFV Gen Bölgesinin Çoğaltılması 30
3.3.2. Pyrosekans Yöntemi İle Dizi A Analizi ve Mutasyonların Tespiti 30
3.3. İstatistiksel Analiz 32
4. BULGULAR 33
5. TARTIŞMA 47
6. SONUÇLAR 57
7. KAYNAKLAR 59
8. EKLER 65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Farklı toplumlarda mutasyon dağılımı 6
Tablo 2. Etnik kökene göre klinik özellikler 14
Tablo 3. AAA' da Tel Hashomer Tanı Kriterleri 17
Tablo 4. AAA 'da Livneh ve arkadaşlarının tanı kriterleri 18
Tablo 5. Pras hastalık şiddet skorlaması 19
Tablo 6. AAA hastalığında ayırıcı tanıya giren hastalıklar 20
Tablo 7. AAA' de genetik teşhise yaklaşım…….....……34
Tablo 8. Çalışmada kullanılan primer dizileri……42
Tablo 9. Vaka ve kontrol grubunun demografik özellikleri 34
Tablo 10. Vaka grubunu oluşturan hasta, kardeş ve onların ebeveynlerinin MEFV gen mutasyonları sayı ve yüzdelikleri 34
Tablo 11. Kontrol grubundaki bireylerin MEFV gen mutasyonları sayı ve yüzdelikleri 37
Tablo 12. Vaka ve kontrol gruplarının memleketlerine göre dağılımı 39
Tablo 13. Çalışma grubundaki ailelerdeki Fenotip 3'ün prevelansı 39
Tablo 14. Fenotip 3 olduğu ortaya konulan olguların özellikleri 40
Tablo 15. Vaka ve kontrol grubunun cinsiyete göre MEFV mutasyon varlığı 40
Tablo 16. Çalışmamızdaki tüm bireylerin MEFV mutasyon kıyaslaması 40
Tablo 17. Çalışmamızdaki tüm katılımcıların cinsiyet ve mutasyonlarının sayı ve yüzdeliklerinin kıyaslanması 41
Tablo 18. MEFV mutasyonlarının tüm katılımcılardaki dağılımı 41
Tablo 19. Vaka grubuyla kontrol grubunun genotip dağılımlarına göre karşılaştırılması 43
Tablo 20. Vaka ve kontrol grubundaki bireylerin MEFV allel sayıları ve yüzdeleri 44
Tablo 21. Homozigot ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması 44
Tablo 22. Vaka ve kontrol gruplarında mutasyon sayıları 44
Tablo 23. Birleşik heterozigot bireylerin sayıları 45
Tablo 24. Heterozigot, birleşik heterozigot ve homozigot mutasyon sıklığının gruplarımızda dağılımı 46

Tablo 25. Türk toplumunda farklı grupların allel dağılımları 51
Tablo 26. AAA' lı bireylerde tespit edilen MEFV mutasyonu etnik gruplardaki dağılımı 52
Tablo 27. Türk Toplumu' nda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonu sıklıkları……56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Japon ve Orta Asya Toplumlarında MEFV mutasyon yüzdeleri..... 5
Şekil 2. AAA' nın otozomal resesif kalıtım paterni 7
Şekil 3. AAA geninin (MEFV) 16. kromozomda lokalizasyonu..... 8
Şekil 4. MEVF mutasyonlarının bulunduğu ekzonlarlar. 8
Şekil 5. Pirin (marenostrinin) proteini 10
Şekil 6. Pirin proteini ve ASC arasındaki ilişkinin şematik görünümü……..11
Şekil 7. Ailevi Akdeniz ateşi hastalığında görülen belirti ve bulgular 15
Şekil 8. Çalışma grubumuzun alt kümeleri..... 33
Şekil 9. Vaka grubunu oluşturan hasta çocuklar, bunların kardeşleri ve ebeveynlerde MEFV gen mutasyonlarının dağılımı 36
Şekil 10. Kontrol grubunu oluşturan çocuklar, bu çocukların kardeşleri ve ebeveynlerinde saptanan MEFV gen mutasyonlarının dağılımı 38

KISALTMALAR VE SİMGELER

µl : Mikrolitre

AAA : Ailevi Akdeniz Ateşi

AFR : Akut faz reaktanı

ARMS- PCR : Ampification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction

ASC : Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (Apoptosisle ilişkili CARD içeren speck benzeri protein).

C5a : Kompleman 5a

DNA : Deoksiribonükleik asit

EDTA : Etilendiamin tetraasetikasit

FMF : Familial Mediterranean Fever (Ailevi Akdeniz Ateşi)

HIDS : Hiperimmunoglobulin D sendromu

HLA : Human lökosit antijen

IL : İnterlökin LPS : Lipopolisakarit

MEFV : Mediterranean Fever Gene (AAA geni)

mg/dl : Miligram/ desilitre

NF- kB : Nükleer Faktör kappa B

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PFAPA : Periyodik ateş, aftöz stomatit, farenjit, adenopati sendromu

PMNL : Polimorfonükleer lökositler

PON 1 : Paraoxonase 1

PYD : Pirin domeni (bölgesi)

ROS : Reaktif oksijen türleri

SAA : Serum Amiloid A proteini

sICAM-1 : Solübül intersellüler adezyon molekülü- 1 sn : Saniye

SPSS : Statistical Package for Social Science

TNF : Tümör nekrozis faktör

TRAPS : TNF reseptör ilişkili periyodik sendrom

ÇG : Çalışma grubu

KG : Kontrol grubu

VGHÇ **:** Vaka grubundaki hasta çocuklar

VGK **:** Vaka grubundaki kardeşler

VGE **:** Vaka grubundaki ebeveynler

KGSÇ **:** Kontrol grubundaki sağlam çocuklar

KGK **:** Kontrol grubundaki kardeşler

KGE **:** Kontrol grubundaki ebeveynler

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince tez konumun belirlenmesi, şekillenmesi, yürütülmesi ve tez sürecinin organizasyonunda bilimsel çalışmaya yönlendiren ve destekleyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Celalettin Koşan' a ve Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Zerrin Orbak' a ve onun şahsında tüm değerli hocalarıma, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı' nın diğer çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca beni her konuda destekleyen sevgili eşim Bahar' a ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, beni bugünlere getiren sevgili annem ve babama sonsuz şükranlarımı sunarım.

Dr. Emir Faruk Tekeoğlu

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarının Aile Bireylerindeki Gen Mutasyonları ve Hastalardaki Gen Mutasyonları İlişkisinin Araştırılması

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) tekrarlayıcı vasıfta, karın ağrısı, ateş, eklem ağrıları ile seyreden, vücuttaki seröz zarları tutan (plevra, periton, sinovya) otoinflamatuar bir hastalıktır. Otozomal resesif kalıtılır. Belirli etnik kökenli toplumlarda daha sık görülür. Toplumumuzda da, bu hastalık sık görülmektedir.

AAA hastalığı çeşitli fenotiplere ayrılmıştır. Genotip/fenotip korelasyonun en belirgin olduğu durum, marenostrin/pyrin genindeki M694V/M694V homozigot mutasyondur. Bu mutasyonu taşıyan AAA hastalarında klinik daha ağır, ataklar daha sık, kolşisin gereksinimi daha fazla ve amiloidoz gelişimi önemli derecede daha yüksektir. Amiloidoz gelişim sıklığının daha yüksek oluşunun genetik özellikle doğrudan mı ilişkili olduğu yoksa bu mutasyonlu bireylerde hastalık seyrinin daha agresif olmasına mı bağlı olduğu noktası henüz aydınlatılmamıştır. AAA' li hastalarda klinik yakınmalar ve hastalık ciddiyeti değişkendir.

Klasik olarak üç fenotipte incelenen AAA'de, fenotip 2' nin ilk klinik bulgusu AA tipi amiloidozdur. Fenotip 3 ise homozigot yahut birleşik heterozigot mutasyonlu fakat semptom vermemiş bireyler olarak tanımlanmaktadır. Fenotip 3 prevelansı ise toplumumuzda bilinmemektedir. Fenotip 3' ün fenotip 2' ye dönüşebildiği bilinmektedir. Bu açıdan fenotip 3 için erken tanı önemlidir. MEFV geninin belirlenmesi AAA (Ailesel Akdeniz Ateşi)' nın tanısı için moleküler çalışmalara olanak sağlamıştır. Bununla birlikte yaklaşık son 15 yıldır yapılan genetik çalışmalara rağmen, AAA' nın tanısı halen klinik olarak konulmaktadır. Fakat mutasyon çalışmaları sık kullanılmakta ve bize yardımcı olmaktadır. Atipik vakaların klinik tanısını koymada ve fenotip belirlemede gen analizi bize yol gösterici olmaktadır.

Amaç: Çalışmamızdaki amaç, AAA genetik analizi çalışılarak, vaka ve kontrol grupları arasındaki mutasyon sıklığını kıyaslayamak ayrıca tespit edilen MEFV gen mutasyonlarının birinci derece akrabalar arasındaki geçişini ortaya koymaktır. Elde ettiğimiz veriler ileride yapılacak başka çalışmalara kaynak olabilecektir.

Materyal ve Metot: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Kliniğinde AAA tanısıyla takip edilen hastalar, kardeşleri ve ebeveynlerden toplam 184 kişilik bir vaka grubu oluşturuldu. Bu hastaların birinci derece akrabalarında (anne, baba ve kardeşlerinde) AAA mutasyon analizi ile hastalarda mutasyon karşılaştırılması yapıldı. Kontrol grubu olarak; AAA tanısı almamış toplam 96 kişide AAA mutasyonları araştırılıp, hasta popülasyonu ile mukayese yapıldı.

Tartışma: Çalışmamızda vaka grubundaki hasta çocuklarda MEFV mutasyonu taşıyıcılık oranı %91,9 olarak bulundu. Vaka grubundaki kardeşlerde ise taşıyıcılık oranı %83,7 ve vaka grubundaki ebeveynlerde ise bu oran %82,7 bulundu. AAA'lı bireyin birinci derece akrabalarındaki oranın yüksek olduğu görülmektedir. Kontrol grubunda ise MEFV mutasyonu taşıyıcılık oranları sırasıyla; kontrol grubundaki çocuklarda %30, kontrol grubundaki kardeşlerde %16,6, kontrol grubundaki ebeveynlerde ise %30 olduğu görüldü. Yakın zamanda yapılan Erzurum İli ve çevresinde sağlıklı adölesanlarda yapılan çalışmada MEFV gen taşıyıcılık oranının (1/3,6 (%27,7)) çalışmamızla benzer taşıyıcılık oranına sahip olduğu görüldü.

Sonuç: Toplamda çalışmamıza katılan 280 bireyin MEFV gen analizine bakıldığında mutasyon tespit edilen 185 birey olduğu görülmektedir (%66,0). Vaka grubunda 157 (%85,3), kontrol grubunda bu sayı 28 (%29,1) olduğu görüldü. Vaka grubunda 8, kontrol grubunda 5 farklı mutasyon tespit edilmiştir. Her iki grupta da en sık gözlenen MEFV mutasyonu M694V idi. Mutasyon varlığının cinsiyetlere göre fark göstermediği de gözlenmiştir. AAA' lı çocukların ebeveynlerinde ve kardeşlerinde MEFV mutasyon görülme sıklığı %82,9' dur. Hasta ebeveyn ve kardeşlerinde 3, kontrol grubunda ise 2 fenotip 3 mevcuttu. Fenotip 2' ye dönme riski taşıması nedeniyle, hasta ailesinin AAA mutasyonu açısından taranması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: AAA, MEFV Gen Mutasyonu, Ebeveyn, Kardeş, Fenotip

ABSTRACT

Investigation of Gene Mutatıons in Family Members of Patient With Familial Mediterranean Fever and Genotipe of Patıents and First Degree Relatıve

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autoinflammatory disease characterized by recurrent features of abdominal pain, fever, and joint pain, involving serous membranes in the body (pleura, peritoneum, synovia). It is inherited autosomal recessively. It is more common in societies of specific ethnic origin. The people of the northern Turkey is among those societies.

FMF disease is divided into various phenotypes. There is no exact data for each mutation in terms of genotype / phenotype correlation. However, the most prominent genotype / phenotype correlation is the M694V / M694V homozygous mutation in the marenostrin / pyrin gene. FMF patients with this mutation have a significantly higher clinical status, more severe attacks, more frequent colchicine requirements, and significantly higher amyloidosis.

It is still unknown that the higher frequency of amyloidosis is directly related to genetics, or whether the disease course is more aggressive in individuals with this mutation.

Clinical symptoms and severity of the disease are variable in patients with FMF. FMF amyloidosis is the first clinical manifestation of phenotype 2 in FMF, which is classically examined in three phenotypes. Phenotype 3 is defined as individuals with homozygous or united heterozygous mutations but without symptoms. Phenotype 3 prevalence is not known in our society. Phenotype 3 is known to turn into phenotype 2. In this respect, it is important to pay attention to the early diagnosis stage for phenotype 3.

Determination of the MEFV gene allowed molecular studies for the diagnosis of FMF (Familial Mediterranean Fever). However, despite genetic studies the diagnosis of FMF is still clinically established in the last 15 years. But mutation studies and genetic analysis are frequently used and guiding us phenotyping atypical cases.

Objective: The aim of the study was to investigate the transition of the MEFV gene between patients and first-degree relatives by comparing the frequency

of mutations between case and control groups. The data we have obtained will be the source of further studies.

Materials and Methods: The study was carried out in the Department of Pediatric Nephrology, Research Hospital of Atatürk University, Faculty of Medicine. A total of 184 patients with FMF and their parents were included in the study. Comparison of mutations in the first-degree relatives of these patients; mother, father and siblings and as a control group; FMF mutations were investigated in a total of 96 subjects who were not diagnosed with FMF and their children were compared with the patient population.

Discussion: In the study, the case group, the rate of MEFV gene mutation carriers was 91.9% in the children. The carrier rate was 83.7% in siblings and 82.7% in their parents. According to those results we suggest that mutations was higher in the first degree relatives of the children in the case group.

In the control group, the rates of MEFV mutation carriers were as follows: 30% in children with non-FMF phenotype, in their siblings 16.6%, and 30% in their parents.

According to recent studies, this rate is 1/3,6 (27.7%) in healthy adolescents living in and around Erzurum province and it is observed that there are similar carrier rates in our study. Phenotype 3 was found to be 16.6% in the siblings and parents of the group. This ratio was very high. Because phenotype 3 individuals are known to occur in the future as phenotype 2. For this reason, the importance of genetic mutation analysis was revealed in individuals with FMF disease in their first degree relatives.

Conclusion: According to the MEFV gene analysis of the 280 individuals who participated in our study, there were 185 individuals with mutation 66.0%. While this was limited to 28 (29.1%) in the control group, it was 157 (85.3%) in the case group.

In the case group, 8 different mutations and 5 different mutations were detected in the control group. The highest observed MEFV mutation in both groups was M694V. It was also observed that the presence of mutation did not differ by

gender. The incidence of MEFV mutation in the parents and siblings of children with FMF is considerably higher than the community.

In families with only one member of FMF type 1 (Phenotype 1), routine clinical assessment and genetic screening of siblings should be mandatory for the detection of type 3 FMF (Phenotype 3) that does not give clinical signs.

Key Words: FMF, MEFV Gen Mutation, Parent, Brother, Phenotypes

1. GİRİŞ VE AMAÇ

AAA (Ailesel Akdeniz Ateşi), 16.cı kromozom üzerindeki gen mutasyonlarının neden olduğu otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır. Tekrarlayıcı karın ağrısı, göğüs ağrısı, ateşin eşlik ettiği akut ataklar şeklinde seyreden serözit formlarıyla karakterize olan bir hastalıktır. Doğu Akdeniz toplumlarında (Ermeni, Yahudi, Türk ve Arap) daha sık görüldüğü bilinmektedir. Belirtiler %60 oranında 10 yaşından önce, %80- 90 oranında da 20 yaşından önce başladığı bilinmektedir. MEFV mutasyonlarının tanımlanması farklı genotiplerin teşhisine katkı sağlar. MEFV mutasyonunun tipi, otoinflamatuar hastalık seyrini ağırlaştırabilir ve tedaviyi etkiler. Heterozigot bireylerde de değişken penetrasyon ve AAA ekspresyonu (fenotip) vardır.

AAA tanısı klinik olarak konulur ve doğru bir klinik tanı öykü alınması ve inflamasyon parametreleri ile hastalık aktivitesinin izlenmesi (C-reaktif protein, serum amiloid A, eritrosit sedimentasyon hızı, fibrinojen, beyaz kan hücresi sayımı)' ne dayandırılmalıdır. Etkilenen bireylerin aileleri için genetik danışma ve rutin tarama programlarının uygulanması ileride onlarda çıkacak tablolar için iyi bir ön tedbir olabileceğini öngörmekteyiz.

Ayrıca daha önce toplumumuzda hasta, kardeş ve ebeveynleri içene alan MEFV geninin bakıldığı bir çalışma yapılmadığını gördük. Bu çalışmada kardeş ve ebeveynleri de içine alan MEFV gen sıklığının bakılmasının yanında, fenotip 3' ün sıklığı vurgulandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA)

2.1.1. Tanımı

Ailevi Akdeniz ateşi (AAA), otoinflamatuar hastalıklar arasında en sık görülen, üzerinde en çok çalışılan, otozomal resesif geçişli, ataklar halinde seyir gösterme özelliği olan, çoğu kez yüksek ateş ile birlikte seyreden eklem sinovyası, periton, plevra ve nadiren perikardı tutan etnik kökenli bir hastalıktır [1]. Yangısal atakların ortaya çıkardığı bilinen bir patojenin, otoantikorların ya da antijene özgü T hücrelerinin olmaması nedeniyle, AAA otoinflamatuar bir hastalık olarak tanımlanır [2-4].

2.1.2. Tarihçe

Hastalık ilk kez 1908 yılında Janeway ve Rosenthal tarafından, 16 yaşında, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve lökositozu olan Yahudi bir kızda "paroksismal bir hastalık" olarak bildirilmiştir [5]. Daha sonra Siegal 1945 yılında kendisinde ve 10 Ashkenazi Yahudisi'nde aynı tabloyu saptamış ve "Benign Paroksismal Peritonitis" olarak yayınlamıştır [6]. 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 [7]. 1958 yılında Heller ve Sohar ilk kez "Ailevi Akdeniz Ateşi" tanımını kullanmış ve 1961 yılında hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir [8]. Goldfinger tarafından 1972 yılında kolşisinin hastalık ataklarını ve amiloidozu önlediği gösterilmiştir [9]. Türkiye'de ise ilk olarak 1946 yılında Abrevaya Marmaralı, Siegal'ın 1945'deki yayınına atıf yaparak "Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu" başlığı ile, izlediği AAA hastasını Tıp Cemiyeti Mecmuası'nda yayınlamıştır [10].

2.1.3. Epidemiyoloji

Ailevi Akdeniz Ateşi, otozomal resesif kalıtım gösteren, yaygın olarak Akdeniz kökenli topluluklarda; Türkler, Ermeniler, Araplar ve Askenazi olmayan Yahudilerde görülen genetik bir hastalıktır. AAA, Dünya genelinde Amerika ve Avustralya'nın yanı sıra daha nadir olarak Fransa, Almanya, İtalya ve İspanya gibi Avrupa ülkelerinde de görülebilmektedir. Dünya çapında 100,000' den fazla insan AAA' dan etkilenmektedir [11]. Son yıllarda yapılan araştırmalar ile Türkiye' de AAA hastalığının İç Anadolu Bölgesi'nde daha sık görüldüğü, Sivas ilinin en yaygın prevalansa sahip olduğu, hastalığın seyrek olarak Trakya Bölgesi başta olmak üzere Batı Anadolu'da görüldüğü, genel prevalans hızının 1:1000 ve sağlıklı taşıyıcılık oranlarının 1:5 olduğu belirtilmiştir [12].

Farklı toplumlarda yapılan mutasyon analizlerinin incelenmesi bu mutasyonların tarih boyunca yayılımı hakkında önemli bilgiler vermektedir [13]. İsrail'de yaşayan Orta Doğu kökenli Yahudilerdeki mevcut birçok mutasyonla Arap, Ermeni ve Türk AAA hastalarındaki mutasyonlar benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte Kuzey Afrika kökenli Yahudilerde M694V mutasyonu ve E148Q varyantı, Aşkenazi Yahudilerinde ise E148Q varyantı ve V726A mutasyonları sık görülmektedir. Bu veriler, bu üç mutasyonun çok eski olduğunu, 2500 yıldan daha fazla bir süre önce Orta Doğu'da (Mezopotamya) görüldüğünü göstermektedir [14]. M694V mutasyonun, Orta Doğu'dan Kuzey Afrika ve İspanya'ya ya erken dönemde deniz (Akdeniz) yoluyla ya da geç dönemde (8. yüzyılda) batıya olan Müslüman fethi sırasında yayıldığı düşünülmektedir. Avrupa' ya V726A yayılımı ya deniz yoluyla ya da kara yoluyla olmuştur. Bütün bu olaylar yani birkaç ailenin taşıdığı bu mutasyonların, göç yoluyla yeni bölgelere taşınması sonucu oluşan "founder" (kurucu) etkisini yansıtmaktadır.

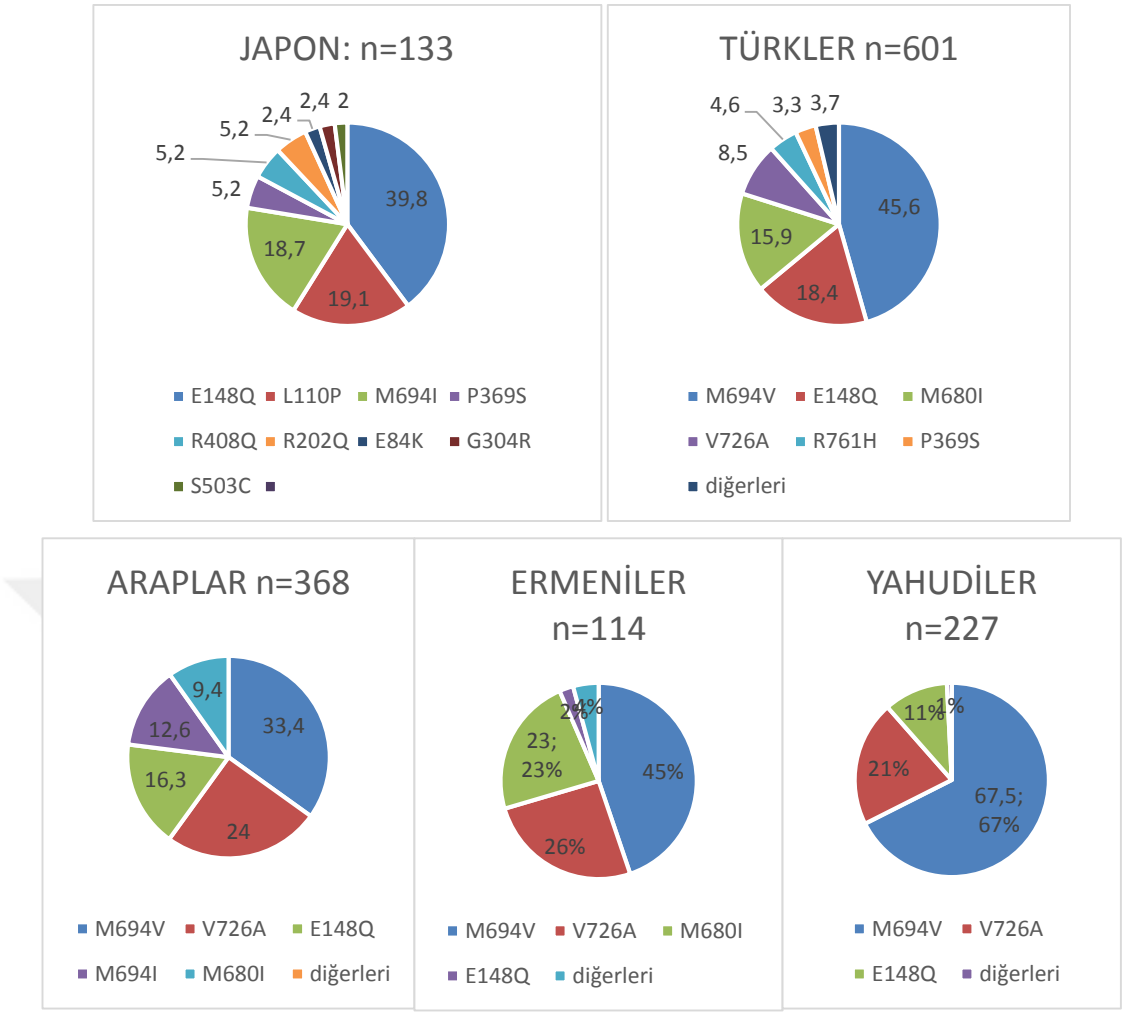
İlginç olarak İspanyol Akdeniz Adası olan Mallorca' nın Palma bölgesinde "Chueta" (Yahudilerin dönüştürülmesiyle oluşan toplumun torunları) diye adlandırılan AAA hasta kümesi tanımlanmıştır [14, 15]. Burada toplam 18 ailede 60'dan fazla AAA tanılı hasta saptanmıştır. Bunların haplotipi incelendiğinde, 16. yüzyılda İspanya' dan sürülen Yahudilerin torunları olan Kuzey Afrikalı Yahudi

AAA hastalarına büyük oranda benzediği saptanmıştır. Bu bilgilerle de mevcut popülasyonların atalarının İspanya'da yaşadığı, buraya da Müslümanlar yoluyla 8. yüzyılda Orta Doğu'dan geldiği anlaşılmaktadır.

Ermenistan' ın Türkiye ile yakın ilişkisinden dolayı kara yoluyla Asya' dan AAA hastalığını aldığı düşünülmüştür. Daha zayıf bir ihtimal ise buradaki Yahudilerin atalarının, 8. yüzyılda Hazar Denizi yoluyla Orta Doğu'dan gelen Hazarlar olduğu sanılmaktadır. Fransa' da yaşayan AAA hastalarının çoğu Kuzey Afrika kökenli, Almanya' dakilerin çoğu da Türk kökenlidir. İtalya' daki AAA' ların çoğu merkezde ve yarımadanın güneyinde yaşamaktadır. Onların ataları muhtemelen Yunan, Türk ve Fenikelilerle birlikte deniz yoluyla gelmiştir [16]. AAA eski çağlarda Orta Doğu'dan (Avrupa'ya) göç yoluyla modern çağdaki yeni dünyaya (ABD) ulaştı. Amerika' daki AAA hasta topluluğunun kökeni Ermeni (Özellikle Kaliforniya), Kuzey Afrika ve Orta Doğu ülkeleridir (doğu kıyısı). Güney Amerika' daki çoğu AAA hastalarının Orta Doğu ve Kuzey Afrika' dan geldiği düşünülmekle birlikte İspanya'nın fethiyle de İspanyol atalarının bu hastalığı getirmiş olabileceği düşünülmektedir.

AAA' nın Japonya' da görülmesi de ilginç karşılanmıştır. Bunun da nedeni olarak Behçet Hastalığına benzer şekilde İpek Yolu ile buraya yayıldığı düşünülmüştür. Bunu destekler şekilde Behçet Hastalarında AAA hastalığı kontrol popülasyona göre daha sık görülmekte ve yine Behçet Hastalarında kontrol popülasyona göre daha sık MEFV mutasyonunun taşındığı belirtilmektedir [17, 18]. Japonya'da göreceli olarak mutasyon çeşidi kısıtlı olup sıklıkla M694I, E148Q ve [E148Q; L110P] "cis" formunda olması da founder (kurucu) etkisini göstermektedir. İlk kez Türk ailelerinde bildirilen bu kompleks allelin yanı sıra M694I varlığı, İpek yolu başlangıcının Türkiye olduğunu düşündürmüştür [19]. Bununla birlikte bu durum, mutasyonların de novo görüldüğü olasılığını da dışlamaz.

Japonya' da Kishida ve ark. [20]' nın 2014 yılında yaptığı bir çalışmada Japon ve Orta Asya Toplumlarında MEFV mutasyon yüzdeleri **Şekil 1**' de gösterildi. Araştırılan tüm toplumlarda en sık gözlenen mutasyon M694V olduğu görülmekteydi.



Şekil 1. Japon ve Orta Asya Toplumlarında MEFV mutasyon yüzdeleri [20]

Ülkemizde ise hastalık Akdeniz kıyılarından çok, aile kökenleri Kastamonu, Sinop, Tokat, Sivas, Kayseri, Malatya, Kars, Erzurum, Erzincan ve Ağrı'ya dayanan bireylerde daha sık görülmektedir [4]. Akraba evliliğinin fazla olduğu bölgelerde ortaya çıkma riski yüksektir. Otozomal resesif geçişli bir hastalık olan AAA'da akraba evliliği sıklığı %30-40 civarındadır [21].

2.1.4. AAA' da Kliniğe Etkili Olan Çevresel Faktörler

Çevresel faktörlerin etkisi için ilk kanıt, 1970'lerde tanımlanmıştır. ABD'de yaşayan Ermeni AAA' li hastalarda Ermenistan'da yaşayanlara göre daha az sıklıkla amiloidoz geliştiği belirtilmiştir [22]. Çok sonra Touitou ve ark. [23] ikamet edilen ülkenin MEFV genotipine kıyasla hastalığın şiddetini daha önemli ölçüde

etkilediğini doğruladı. Benzer olarak Özen ve ark. [24] Türkiye'de yaşayan AAA' lı Türk çocuklarında Almanya'da yaşayanlara göre daha ağır bir hastalık gözlemledi. Türkiye' deki çocukların eksojen mikrobiyal tetikleyicilere maruz kalmaları olabilir [22]. Bu gözlemlerin olası açıklaması; çevresel faktörler AAA hastalığının gidişatı üzerinde etkili olmuştur.

Tablo 1. Farklı toplumlarda mutasyon dağılımı [11]

İsrail
Kuzey Afrika Yahudileri: p.M694V, p.E148Q
Irak Yahudileri: p.V726A, p.M694V, p.E148Q, p.M680I
Aşkenazi Yahudileri: p.E148Q, p.V726A
Orta Doğu
Araplar: p.V726A, p.M680I, p.M694V, p.694I, p.E148Q
Türkiye
Türkler: p.M694C, p.M980I, p.V726A, p.E148Q
Ermenistan
Ermeniler: p.M694V, p.M680I, p.V726A, p.E148Q
Japonya
Japonlar: p.M694I, p.(L110P; E148Q), p.R761H, p.E84

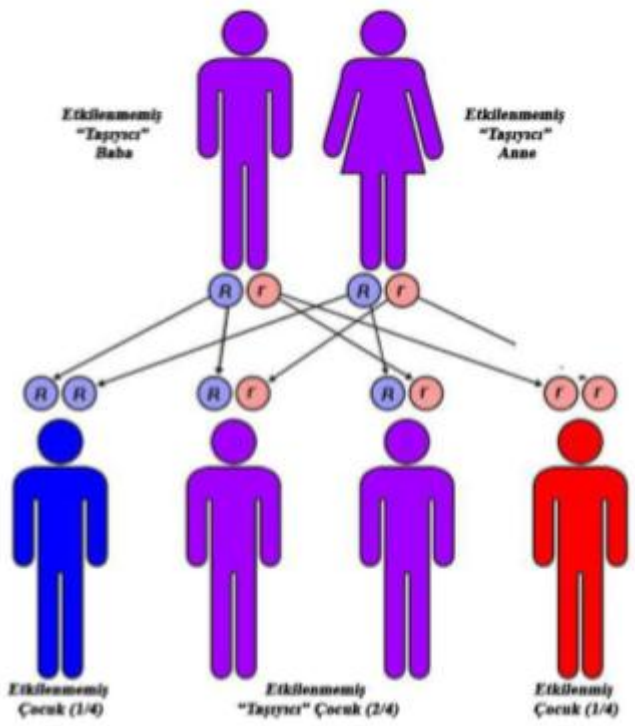
Farklı ortamlarda çeşitli patojenlere maruz kalmanın, insanlarda yarattığı enflamasyonla hastalığın tetiklenmesine ve ortaya çıkmasına neden olduğu ileri sürülmüştür [25]. AAA'nın fenotipini modüle ettiği iyi bilinen diğer çevresel faktörler; duygusal stres, soğuk algınlığı gibi psikososyal faktörlerdir, adet dönemleri ve hamileliktir.

Ayrıca, diğer pediyatrik popülasyonla karşılaştırıldığında AAA hastalarının çocukluk döneminde mikrobiyal enfeksiyonlara büyük bir direnç gösterdiği ve antibiyotik tedavisi için küçük bir gereklilik olduğu gözlenmiştir. Orak Hücre Anemililerin, Plasmodium Falciparum enfeksiyonuna dirençli olmasına benzer şekilde AAA' nın da bir korunma mekanizması mı olduğu tartışılmaktadır [22]. Ayrıca, çeşitli çalışmalar AAA' nın astım, atopik duyarlılık ve alerjik rinite (AAA' lı

çocuklarda % 7) karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini göstermektedir ki bu hastalıklar pediyatrik popülasyonda % 20 oranında görülmektedir [22].

2.1.5. Genetik Geçiş

AAA hastalığının katılımı, otozomal resesiftir **(Şekil 2)** [26]. AAA taşıyıcılığı ve akraba evliliği oranı yüksek olan toplumlarda çocukların taşıyıcı veya hasta olma olasılığı yüksektir. Eğer anne ve baba mutasyonu heterozigot olarak taşıyorsa bir sonraki nesilde hasta bireyin dünyaya gelme ihtimali %25, taşıyıcılık oranı %50 iken sağlıklı birey olma olasılığı %25 'dir**.** Kız ve erkek çocuklarının hasta olma oranı aynıdır [27].

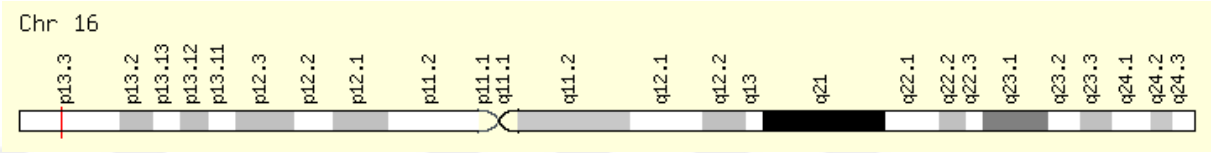


Şekil 2. AAA' nın otozomal resesif kalıtım paterni [27]

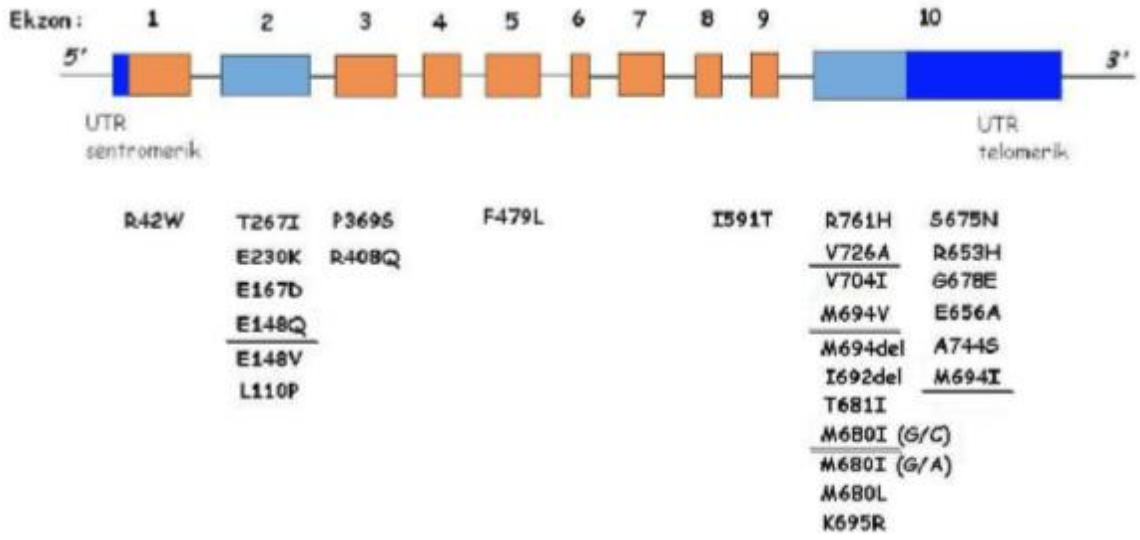
Otozomal resesif geçiş gösteren AAA' dan sorumlu olan MEFV geni, 15 kilobazlık, 3505 nükleotid içeren ve 10 ekzondan oluşan büyük bir gen olup 16.

kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olmuştur [26] ve 781 amino asit içeren Fransızların ‘marenostrin’ adını verdikleri, 1997’ de Uluslar arası AAA konsorsiumun ‘pirin’ dediği bir proteini kodlar [28-30]. MEFV geni granülositlerde eksprese olur ve inflamatuar yanıtın oluşmasında önemli rol oynar [31].

MEFV geninin 16. kromozomdaki lokalizasyonu **Şekil 3**’de gösterilmiştir [32].



Şekil 3. AAA geninin (MEFV) 16. kromozomda lokalizasyonu [32]



Şekil 4. MEFV mutasyonlarının bulunduğu ekzonlar [33]

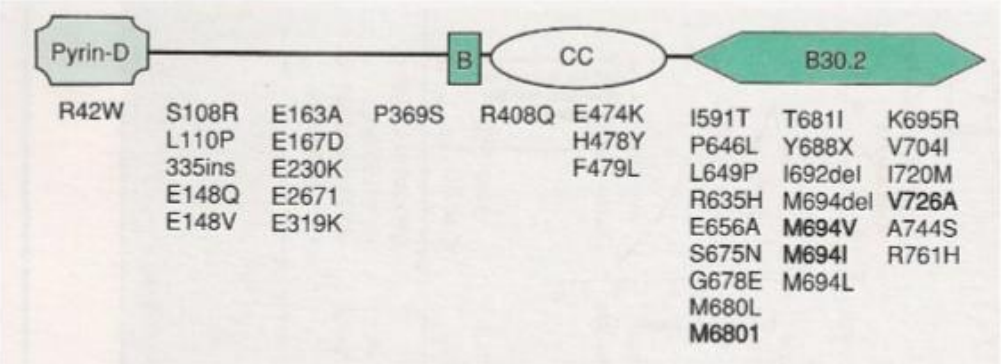
Pirin proteinindeki 694. aminoasitte metionin yerine valin gelmesiyle M694V ve metionin yerine izolösin geçmesiyle M694I; 680. aminoasitte metionin yerine izolösin geçmesi sonucu M680I, 726. aminoasitte valin yerine alaninin geçmesiyle de V726A mutasyonları oluşur. 148. aminoasitte glutamik asit yerine glutaminin geçmesiyle oluşan E148Q mutasyonu ise ekzon 2’ de yer alır [34, 35]. En sık rastlanan mutasyon olan M694V, vakaların %20- 67’ sinde gösterilmiş olup,

homozigot olması durumunda hastalık ağırlığında ve amiloidoz insidansında artışa neden olabilmektedir [36].

Bugüne kadar MEFV geninde saptanan mutasyon sayısı 300' den fazladır ve çoğu gen 10. ekzonunda bulunmaktadır [37]. En sık görülen mutasyondan 4' ü ekzon 10' da (M694V,V726A,M694I,M680I) bir tanesi de ekzon 2' de (E148Q) yer almaktadır. Özellikle ekzon 10' daki mutasyonlara farklı oranlarda da olsa hastalık riski taşıyan hastaların tümünde rastlanmıştır. E148Q genetik dizi varyasyonunun hastalıktaki rolü hala tartışma konusudur. Başlangıçta düşük penetrasyonlu ve hafif hastalığa neden olan bir mutasyon olarak tanımlanmıştır [38]. E148Q gen anomalisinin AAA hastaları ve sağlıklı kontroller arasında benzer dağılım gösterdiğini gösteren çalışma sonuçlarına göre E148Q' nun benign bir polimorfizm olduğu görülmüştür. Ancak E148Q- V726A mutasyonuyla aynı allelde belirdiğinde ise homozigot veya bileşik heterozigot hastalar V726A homozigot olan hastalara kıyasla daha şiddetli bir hastalığı ortaya çıkardığı görülmüştür [38, 39].

2.1.6. Patogenez

AAA hastalığının etyopatogenezi henüz tam olarak kesinleşmemiştir. Güncel görüşte enflamasyon yanıtında bir bozukluk olduğu düşünülmektedir [5]. AAA hastalığı ile ilişkili bulunan MEFV geninde kodlanan pirin (marenostrinin) proteini, dört farklı fonksiyonel domain (bölge) içermektedir. N-terminal ucunda PYD/ pirin domaini, C-terminalinde B30.2 domaini, PYD ve B30.2 domainleri arasına sıkışmış B-box ve CC (coiled- coil/ sarmallanmış sarmal) segmentleridir. En sık mutasyonlar B30.2 bölgesini etkilemektedir [40] (**Şekil 5**).

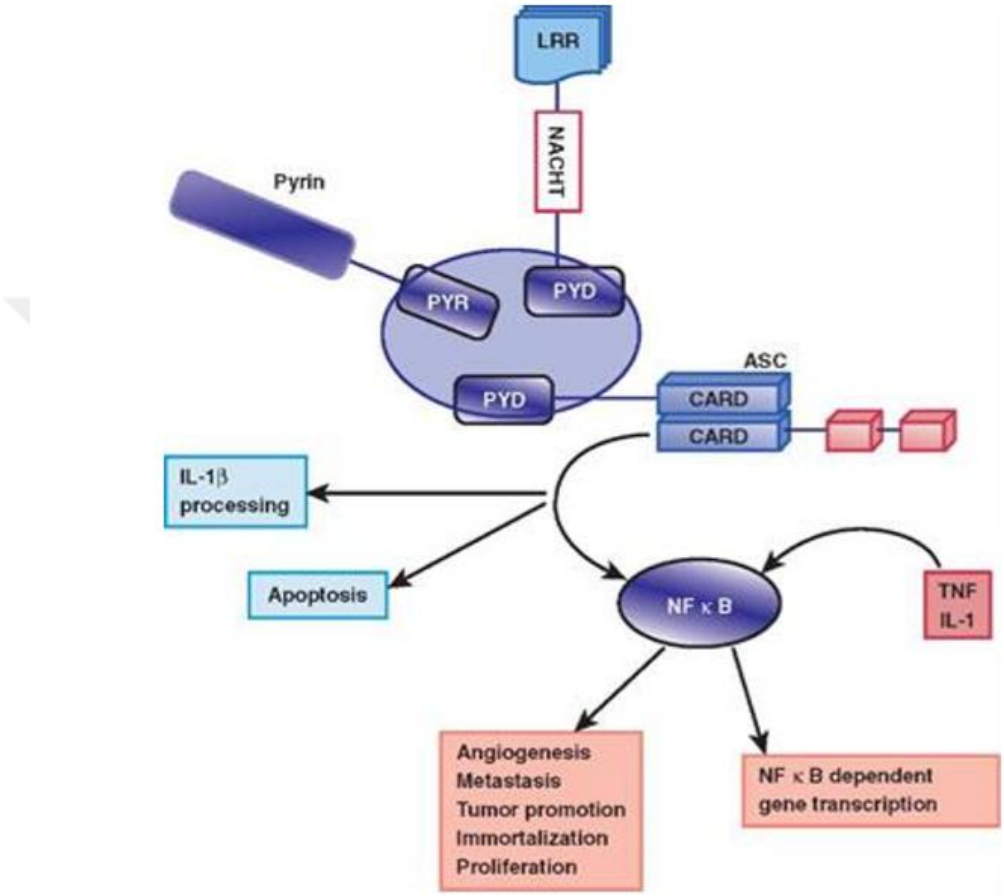


Şekil 5. Pirin (marenostrinin) proteini

Aktif inflamatuar hücreler dokuya geçer. Bu hücreler tarafından üretilen serbest oksijen radikallerinin AAA patofizyolojisinde önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir. AAA olan hastalarda ataklar sırasında serum interferon- γ, TNF- α, IL- 1β, IL- 6 ve IL- 8 gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimi artmıştır. Sitokinlerin uyarılması ile aktive edilen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Artan ROS bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB aktivasyonuna yol açar, ROS ve sitokinler arasında bir kısır döngü ortaya çıkar [41, 42]. NF- κB İnflamasyon ve immünitenin çeşitli yönlerini kontrol eden çok sayıda genin regülasyonunda rol oynayan dimerik bir transkripsiyon faktörüdür. Bu transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ve translokasyon, çeşitli sitokinler (IL- 1 ve TNF- α), mikrobiyal ajanlar (LPS; lipopolisakarit- endotoksin), oksidatif ortam (ROS) ve radyasyon gibi faktörlerle moleküler düzeyde düzenlenmektedir [43]. Oksidatif stresin ortaya çıkması ve ROS düzeyinin artmasıyla paraoxonase- 1 (PON-1) ve aril esteraz enzimleri gibi endojen anti- oksidan seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir [44].

N-terminal ucunda yer alan 92 aminoasitlik pirin domain (PYD) olarak bilinen kısım özellikle ilgi çekicidir. Pirin-D inflamasyon cevabında ve apopitozun regülasyonunda rol oynayan proteinlerin etkileşimini kolaylaştırmaktadır. Pirin bir antienflamatuar faktör olarak hareket eder. Bunu da pro IL- 1β'nın aktif forma dönüşmesini inhibe ederek gerçekleştirir. Pirin molekülünün C- terminal alanı (B30.2), IL- 1β üretiminin inhibisyonuna yol açan kaspaz- 1 ile etkileşime girer.

Kaspaz- 1, ASC (apopitozis spect complex) bağlanmasını sağlayan pirin proteininin AAA olan hastalarda mutasyon nedeniyle işlevsel olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Bu durum kontrolsüz inflamasyonun sorumlusu olan IL- 1β düzeyinin artması ile sonuçlanır (**Şekil-6**) [45]. IL- 1β ise ateş ve inflamasyonda rol oynar.



Şekil 6. Pirin proteini ve ASC arasındaki ilişkinin şematik görünümü

Bir başka olasılık, AAA olan hastaların periton ve sinovyal sıvılarında C5a inhibitörü (inaktive edici enzim) eksikliği bulunmuş olmasına dayanmaktadır. C5a, kompleman kaynaklı önemli bir inflamatuvar mediyatördür ve nötrofiller için güçlü bir kemotaktik ajandır. Normal şartlarda C5a inhibitör proteini sinoviyal sıvı ve periton boşluğundaki fibroblastlarca üretilir ve fizyolojik olarak buraya sızmış olan az miktardaki C5a' yı nötralize ederek, uygunsuz bir inflamasyonu engeller. Bu hipoteze göre, AAA' lı hastalarda pirin/ marenostrin disfonksiyonuna bağlı olarak,

C5a inhibitör yetersizliği sonucu fazla miktarda C5a birikmekte ve akut ataklar ortaya çıkmaktadır. Bu teori daha az popüler olmakla birlikte, AAA'nın tekrarlayıcı karakterini açıklamaktadır [43, 46, 47].

AAA ataklarının stres ile ortaya çıkmasına dayanan hipotezler de mevcuttur. Hayashi ve arkadaşları [48], AAA hastalarında noradrenalin infüzyonu ile akut atak başladığını ve vücutta noradrenalin depolarını ve nörotransmitterlerin salıverilmesini azaltan rezerpinin ise bu atakları baskıladığını tespit etmişler. Sonuç olarak katekolamin depolanma ve salıverilme mekanizmasında bir bozukluk olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

2.2. Klinik Bulgular

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, OMIM ID: 249100) klinikte klasik olarak 3 fenotipte tanımlanabilir. AAA tip 1' de en ciddi komplikasyonu amiloidoz olan tekrarlayan ve kısa süreli ateş, peritonit, bazen de plörezi, perikardit, artrit, erizipel benzeri deri döküntüsünün de eşlik ettiği inflamasyon ve serozit atakları mevcuttur. Özellikle çocuklardaki AAA' nın tespit edilebilir tek tezahürü ateş atakları olabilmektedir. Antibiyotiklerin herhangi bir etkisi olmazken, ateş, ateş düşürücü ya da steroidlere yanıt verebilir. Ateş sırasında yapılan laboratuvar tetkiklerinde tipik olarak eritrosit sedimantasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA) ve fibrinojen gibi akut faz reaktanları (AFR) düzeylerinin artması ile birlikte lökositozun olduğu (nötrofili) görülür [49]. Kolşisin alan hastalarda nöbetlerde ateş yaşanmayabilir. Ataklar, soğuğa maruz kalma, duygusal veya fiziksel stres, enfeksiyonlar veya adet görme gibi faktörler tarafından tetiklenebilir. Kadın AAA hastalarının % 15' inden fazlasının perimenstrüel atak geçirdiği gözlenmiştir. Adet sırasında östrojenlerin koruyucu etkisi kaybolduğu için bu da akut atağa neden olmaktadır [49]. Tip 1 fenotipte, ataklar esnasında atipik klinik bulgular olabilir. Bunlar arasında; genellikle steroid tedavisine yanıt veren uzun süreli febril miyalji ve ayrıca erizipel benzeri eritem, aseptik menenjit (Mollaret sendromu) ve vaskülitler, genellikle % ≤5 hasta grubunda görülebilir [49].

Tip 2 ise asemptomatik bir bireyde hastalığın ilk klinik belirtisi olarak amiloidozun ortaya çıkması ile karakterizedir [30, 50]. Bazı olgu sunumlarına

dayanarak tip 2 fenotipi tanımlanmıştır. AAA bulguları ortaya çıkmadan, proteinüri ve böbrek yetmezliğine yol açan AA tip amiloidoz ortaya çıkar [22]. Genellikle, fenotip 2 tanısı alan hastaların yakınlarında AAA tanısı bulunmaktadır. Renal amiloidoz tanısı konulduktan birkaç yıl sonra tipik AAA atağı ortaya çıkabilir, Bu hastalarda, bazen de tüm hayatı boyunca tipik AAA tablosu gelişmez. Tipik AAA atağı olmasa da SAA proteini yüksek düzeyde seyredebilir. SAA proteini zaman zaman pulsatil olarak yükselir ve düşer. Bu hastalarda MEFV gen analizi yapmak mecburidir. AAA hastalarının 1.derece yakınlarında maliyetli olmasına rağmen, fenotip 2 nin yakalanması için MEFV gen mutasyon analizi yapmak, idrarda proteinüri varlığını araştırmak, SAA' nın serum seviyesinin tespiti ve fayda sağlayacağı öngörülebilir. Bu gruba proflaktik kolşisin verilmesi ve medikal takip yapılması, gelişme ihtimali olan amiloidozisin maliyetini azaltacaktır [22].

Tip 3' de ise AAA ve AA amiloidoz belirti ve semptomları olmaksızın sessiz homozigot veya birleşik heterozigot MEFV mutasyonları mevcuttur [22]. Tip 3' ün özelliği, 2 MEFV gen mutasyonun olmasına rağmen (sessiz homozigot veya bileşik heterozigot), AAA veya amiloidoz bulgusu yoktur. İki tane mutasyon olması ve klinik olarak sessiz olması, renal amiloidoz gelişiminde predispozan olabilir [22].

AAA benzeri hastalık tip 4 olarak adlandırılmaktadır. Soriano ve ark. [22]' nın çalışmasına göre fenotip 4 hastalarda genetik mutasyon bakıldığında heterozigot taşıyıcı olduklarından bahsedilmektedir. Ataklarında, ateşsiz artrit atağı görülür. Bazen de ateşsiz karın ağrısı atağı yahut kendiliğinden gerileyen ateşli karın ağrısı atakları ile karakterizedir. Yetişkinlikte sona eren tiptir [22]. Bu yeni fenotip ile ilgili; Camus ve arkadaşları [51] tarafından değerlendirildiğine göre hasta çocukların kardeşlerinde % 5,7' sinde heterozigot mutasyon taşıyıcıları vardı ve bunlar "AAA benzeri" hastalık olarak adlandırıdı ve ateşsiz epizodik artriti ateşsiz veya ateşli zayıf karın ağrısı atakları yetişkin yaşta kendiliğinden remisyona girmektedir.

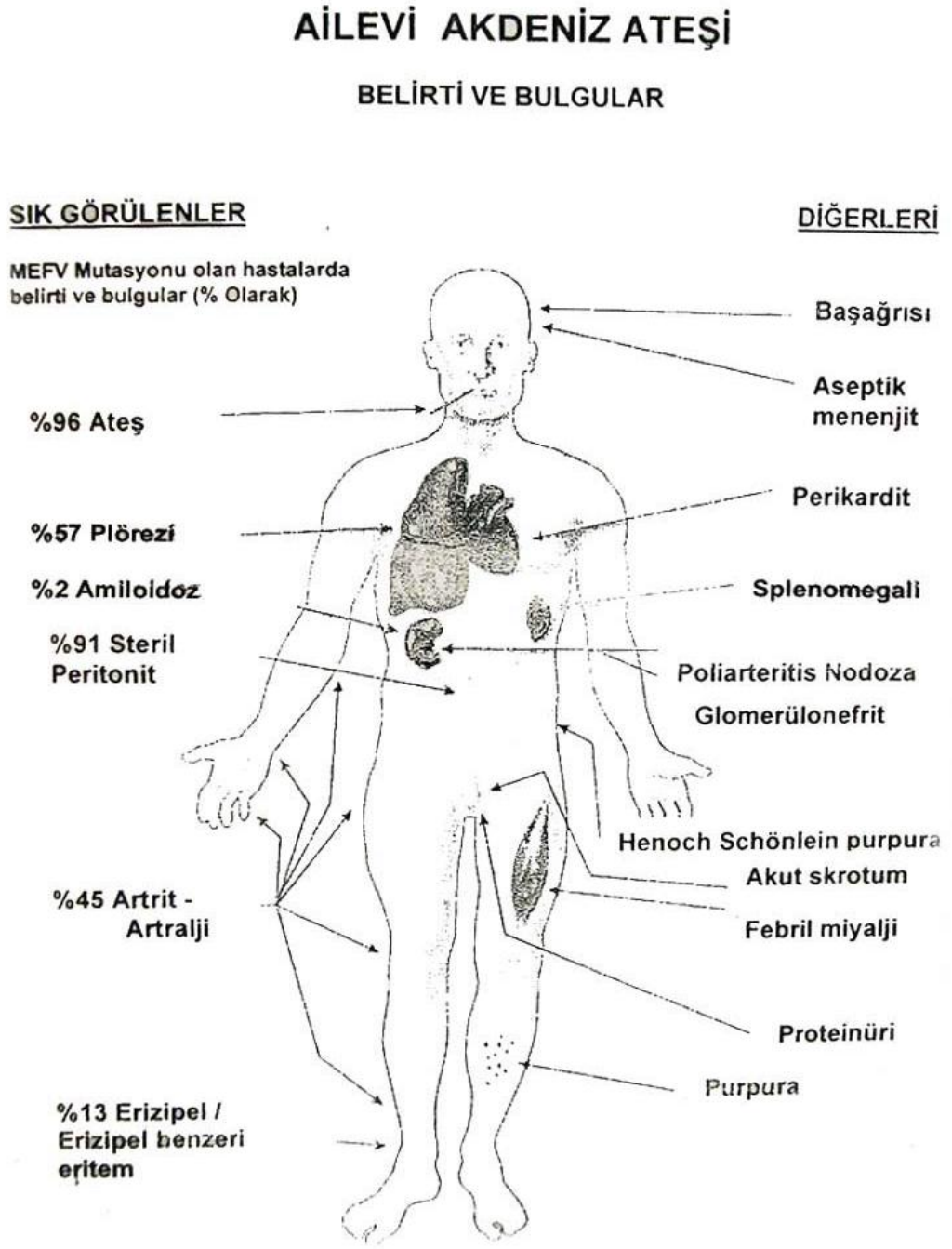
AAA' da klinik semptomlar; ateş, karın ağrısı, eklem bulguları (artrit, artralji), göğüs ağrısı (plörit, perikardit), kas bulguları (febril myalji), vaskülit, akut skrotal ataklar, pelvik tutulum, cilt bulguları (eritem/eritem benzeri erizipel), nörolojik bulgular (aseptik menenjit), amiloidozdur.

Etnik kökenlere göre klinik özelliklerin sıklığı değişiklik gösterebilmektedir [1, 52-57].

Tablo 2. Etnik kökene göre klinik özellikler

	TÜRK	**YAHUDİ**	**ARAP**	**ERMENİ**	**İTALYAN**	**JAPON**	**GİRİT ADASI**
Hasta sayısı	2838	470	192	100	71	80	71
Ateş	%92,5	%100	%100	%100	%92	%98	%80
Peritonit	%93,7	%95	%82	%96	%91	%55	%76
Plörit	%31,2	%40	%43	%87	%52	%61	%21
Artrit	%47,4	%77	%37	%37	%63	%27	%38
Erizipel benzeri eritem	%20,9	%46	%3	%8	%22	%10	%11

AAA semptomları hastaların %60' ında hayatın ilk dekatında, %90' ında ise ikinci dekatında ortaya çıkmaktadır [58]. Hastalığın karakteristik özelliği ateş ile birlikte vücudun bir veya birkaç bölgesinde enflamasyona bağlı ağrı atakları olmasıdır (**Şekil 7**).



Şekil 7. Ailevi Akdeniz ateşi hastalığında görülen belirti ve bulgular
Akut skrotum dışındaki tüm belirti ve bulguların görülme sıklığı cinsiyet ayrımı yapılmadan hesaplanmıştır.

Ataklar kısa süreli olup 1-3 gün sürer ve tedavi edilmese de spontan olarak iyileşir. Ancak atağa eşlik edebilen artrit veya artralji daha uzun sürebilmektedir. Ortaya çıkan ateşin yüksekliği ya da tutulan inflamasyon bölgesi bir ataktan diğerine

farklılık gösterebilir. Atakların seyri hastalar arasında çeşitlilik gösterebileceği gibi aynı ailenin bireylerinde bile farklı atak seyirleri görülebilmektedir. Ataklar arasında hasta kendini iyi hisseder ve bir sonraki atağa kadar normal fonksiyonlarını yerine getirebilir. Düzensiz aralıklarla tekrarlayan ve beklenmedik şekilde ortaya çıkan ataklar hastalığın tipik özelliğini oluştururlar. Ömür boyu süren bu hastalığın seyrinde bir hastanın, hastalığın çok çeşitli fomları ile karşılaşması mümkündür ancak sıklıkla aynı hastada yıllar boyunca aynı tip atak görülür [1].

Çocuklarda hastalık, her iki cinste eşit olmasına rağmen; bazı çalışmalarda erkek: kadın oranı erkekler lehine olup 1,2:1 olarak rapor edilmiştir. Bunun nedeninin hastalık fenotipinin kadınlardaki eksik penetransı ya da MEFV geninin iki allelinde de mutasyon taşıyan kız zigotlardaki artmış embriyonik ölümden kaynaklanabileceği düşünülmektedir [11, 59].

Hastalıktaki başlıca belirti ve bulgular ateş (%96), peritonit (%91), plörezi (%57), artrit/artralji (%45), erizipel benzeri eritem (%13) ve amiloidoz (%2) şeklindedir. Diğer belirti ve bulgular baş ağrısı, aseptik menenjit, perikardit, splenomegali, akut skrotum, febril miyalji, dağınık purpura ve proteinüridir [60]. Hastalığın en ciddi komplikasyonu kronik böbrek yetmezliğine yol açan amiloidozdur [61]. Bazı araştırmalara göre; özellikle M694V mutasyonunda daha ciddi klinik semptomlar vardır ve amiloidoz gelişimi için daha yüksek risk anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, farklı mutasyonlar her zaman fenotipik varyasyonlarla ilişkilendirilemez: Aynı mutasyonları taşıyan hastalarda ve aynı ailenin üyeleri arasında bile klinik özelliklerin büyük çeşitliliği görülebilir.

2 yaşından küçük hastalarda AAA' ya tanı komak zordur. Klinik belirtiler, çocuklar konuşmaya başladıklarında daha kolay anlaşılır [62].

2.3. Laboratuar Bulguları

AAA için spesifik bir laboratuvar testi mevcut değildir [4, 63]. Ataklar sırasında sıklıkla gözlenen laboratuvar bulgularında sola kayma ile birlikte lökositoz, eritrosit sedimentasyon hızında artma, C-reaktif protein, serum amiloid A, fibrinojen,

haptoglobulin, C3 ve C4 gibi akut faz reaktanlarında artış gözlenebilir. Hastalarda geçici olarak ataklar süresince albuminüri ve mikroskopik hematüri görülebilir [64]. Akut AAA atakları sırasında artmış olan serum amiloid A, fibrinojen, ESR ve CRP'nin yanı sıra beyaz kan hücreleri sayımındaki artış ataklar arasında normal değerlere döner [65]. SAA'nın subklinik inflamasyonu belirlemede en iyi belirteç olduğu bildirilmiştir [60].

AAA hastalarında atak seyri sırasında karaciğer enzimleri yükselebilir ancak bu hastalarda hepatit insidansında artış olduğu gösterilememiştir [66]. Amiloidozun erken belirtisi proteinüri olduğu için düzenli idrar tetkiki yapılması tavsiye edilmektedir [67].

2.4. Tanı

AAA tanısı için kullanılabilecek spesifik bir test olmadığından, tanı klinikle konulur. Kısa süreli serözit ve ateş ataklarının varlığı, amiloidoz gelişimi ve kolşisin tedavisine alınan cevap esas alınarak Tel Hashomer tanı kriterleri oluşturulmuştur [68].Uygun klinik ve laboratuvar bulgularının varlığı, uygun etnik gruptan olma, kolşisine yanıt, başka bir nedene bağlı olmayan AA tipi amiloidozun bulunması, ataklar arası dönemde hastaların tamamen normal olması tanı için önemlidir. İlk tanı kriterleri 1967 yılında Sohar tarafından belirlenmiştir. Ancak günümüzde en sık kullanılan kriterler Tel Hashomer tanı kriterleridir. Tel Hashomer kriterlerinin yanısıra kullanılan bir başka kriter de 1998'de Avi Livneh ve arkadaşları tarafından önerilen yeni kriterlerdir [69, 70].

Tablo 3. AAA' da Tel Hashomer Tanı Kriterleri [68]

MAJÖR KRİTERLER	MİNÖR KRİTERLER
1. Serözitin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları	1. Tekrarlayan ateş atakları
2. Yatkınlaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidoz varlığı	2. Erizipel benzeri eritem varlığı
3. Kolşisin tedavisine anlamlı yanıt alınması	3. Birinci derece akrabalarında AAA varlığı
Kesin tanı: 2 major kriter veya 1 major + 2 minör kriter **Olası tanı:** 1 major + 1 minör kriter	

Tablo 4. Livneh ve arkadaşlarının AAA Tanı Kriterleri [69, 70]

MAJÖR KRİTERLER	**MİNÖR KRİTERLER**
1-4'teki tipik ataklar	1. İnkomplet göğüs atakları
1. Peritonit (generalize)	2. İnkomplet artrit atakları
2. Plevrit (tek taraflı) veya perikardit	3. Egzersizle bacak ağrısı
3. Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)	4. Kolşisine iyi yanıt
4. Tek başına ateş	
5. İnkomplet abdominal ataklar	
DESTEKLEYİCİ ÖLÇÜTLER	
1. Ailede AAA öyküsü	
2. Uygun etnik köken fibrinojen düzeylerinden bir veya daha	
3. Yirmi yaş öncesi başlama fazlasında patolojik sonuçlar ile seyreden	
4. Ağır, yatak istirahati gerektiren atak geçici inflamatuvar yanıt.	
5. Kendiliğinden geçmesi	
6. Ataklar arası bulgusuz dönem	
7. Ailede akraba evliliği olması öyküsü	
8. Lökosit, ESH, serum amiloid A,	
9. Aralıklı proteinüri, hematüri	
10. Appendektomi veya tanısal laparatomi	

TİPİK ATAKLAR	İNKOMPLET ATAKLAR
1. Tekrarlayıcı (aynı yerde 3'ten çok), 2. Ateşli (rektal, 38 derece veya daha yüksek) 3. Kısa süreli (12 saat-3 gün) nöbetlerdir.	Aşağıda belirtilen özelliklerden birisi veya ikisi bakımından tipik ataklardan farklı, ağrılı ve tekrarlayıcı ataklardır 1. Normal veya 38 dereceden düşük ateş 2. Klasik nöbetlerden daha uzun veya daha kısa nöbetler 3. Abdominal ataklar esnasında peritonit bulgularının olmaması 4. Lokalize abdominal ataklar 5. Spesifik yerlerden başka yerleri tutan artri
Kesin tanı; 1 veya daha fazla majör kriter veya 2 veya daha fazla minör kriter veya 1 minör, 5 veya daha fazla destekleyici kriter	

veya 1 minör kriter ile birlikte destekleyici ölçütlerden ilk 4 tanesinin varlığı gerekmektedir

Hastalarda atipik klinik belirtiler varsa klinik kriterler yeterli değilse ve tanıyı doğrulamak gerekiyorsa genetik analiz yapılmalıdır [71, 72]. DNA dizileme yöntemi kullanılarak yapılan kapsamlı analizler sonucunda ekzon 10 bölgesi mutasyonların sık görüldüğü sıcak bölge olarak belirtilmiştir [73].

Pediatrik AAA hastalarının tanısında geliştirilmiş olan Yalçınkaya-Özen tanı kriterlerinin, Doğu Akdeniz ve Avrupa' daki hastalarda yapılan sensivite/spesifite çalışmalarında yetişkinlerde kullanılan Tel- Hoshomer ve Livneh kriterlerinden daha yüksek sensivite gösterdiği, ancak spesifitesinin bu kriterlerden daha düşük olduğu bildirilmiştir [74].

2.5. Hastalık Ağırlık Skorlaması

Günümüzde AAA'da hastalık ciddiyetinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan skorlama Pras ve arkadaşlarının yaptığı skorlama sistemidir (**Tablo 5**). Bu skorlama sisteminde hastalığın başlangıç yaşı, aylık atak sayısı, artritin akut ya da uzamış olma durumu, erizipel benzeri eritemin olup olmaması, amiloidoz gelişip gelişmemesi ve kullanılan kolşisin dozuna göre hastalara belirli puanlar verilmekte ve bu puanlamaya göre hastalık 3-5 puan hafif, 6-8 puan orta, 9 ve üzeri puan ciddi olarak sınıflanmıştır [75-77].

Tablo 5. Pras hastalık şiddet skorlaması [76]

PARAMETRE	ÖZELLİK	PUAN
Başlangıç yaşı (yıl)	>31	0
	21-31	1
	11-20	2
	6-10	3
	<6	4
Aylık atak sayısı	<1	1
	1-2	2

	>2	3
Artritin özelliği	Akut	2
	Uzamış	3
Erizipel benzeri eritem varlığı		2
Amiloidoz varlığı		3
Kolşisin dozu (mg/gün)	1	1
	1,5	2
	2	3
	>2	4

AAA hastalarında klinik takip için Pras hastalık skorlaması dışında FMF50 takip skorlaması kullanılmaktadır [78]. FMF50 hastalık takip skoru, hastalığın gidişinin ve tedavinin takibinde yararlı ölçeklerden bir tanesidir. Bu FMF50' ye göre 6 klinik ve laboratuar parametre sorgulanmaktadır. (karın ağrısı atakları, artrit atakları, hasta ve doktor tarafından global ağrı değerlendirilmesi, ESR, CRP, SAA). Bu 6 ölçekten 5 tanesinde 6 ay süreyle %50 iyileşme olması ve hiçbir parametrenin kötüleşmemesi yapılan tedaviye iyi yanıt alındığını göstermektedir. Ölçek değerlendirilmesi yapılırken hastanın tolere edebileceği maksimum doz kolşisin kullanması gerekmektedir [78].

2.6. Ayırıcı Tanı

AAA tanısı konulmadan önce dışlanması gereken bazı hastalıklar vardır. Bunlar arasında; akut karın yapabilen cerrahi hastalıklar, inflamatuar barsak hastalıkları, akut intermittant porfiria, pankreatit, abdominal epilepsi ve vaskülitler sayılabilmektedir. Ayırıcı tanıda çok önemli olan bir diğer nokta ise periyodik ateş sendromlarıdır (**Tablo 6**)[79-81].

Tablo 6. AAA hastalığında ayırıcı tanıya giren hastalıklar

Ateşli Karın Ağrısı Atakları	**Ateşsiz Karın Ağrısı Atakları**	**Göğüs Atakları**
Pyelonefrit	Nefrolithiazis	İnfeksiyöz plöroperikardit
İdrar yolu enfeksiyonu	Kolelithiaz	Otoimmun plöroperikardit

Pelvik enflamatuar hastalık	Peptik ulcus	Rekürren benign perikardit
Pankreatit	Ovülasyon ve menstrüasyon	Plöropnömoni
Behçet Hastalığı	Hemoliz	Rekürren pulmoner emboli
İnflamatuar bağırsak hastalığı	Orak hücreli anemi	
Hiperimmunglobulin D send.	Abdominal epilepsi	
Kronik divertikülit/apendisit	Sifilitik nöropati	
Ailesel İrlanda' lı ateşi(fhf)	Porfiria	
Febril Ataklar	**Eklem Atakları**	**Scrotal Ataklar**
PFAPA	Behçet Hastalığı	Testis torsiyonu
Hiperimmunglobulin D send.	Reiter Sendromu	Epididimit
Chron hastalığı	Spondiloartropati	Orşit
Allerjik reaksiyon	Sarkoidoz	Behçet Hastalığı
Siklik nötropeni	Juvenil idyopatik artrit	
Hodgkin ve non-hodgkin len.	Gut	
Malarya	Romatizmal ateş	
Suni ateş	Septik artrit	

2.7. Genetik Tanı

Kesin tanı için MEFV geninde her iki allelde de mutasyonun olması gerekmektedir. Klinik olarak kuvvetle AAA düşünülen hastada bakılabilen mutasyonlar bir ya da iki allelde negatif bile olsa tanı kesin kabul edilir ve tedaviye başlanır. Şüpheli kliniği olanlarda her iki allelde mutasyon varlığı ile tedaviye karar verilir [82]. AAA otozomal resesif bir hastalık olarak tanımlanmasına rağmen, hastaların %10-20 sinde MEFV gen mutasyonu bulunmamaktadır [83].

Tablo 7. AAA' da genetik teşhise yaklaşım [84]

Klinik teşhiş sonucu	**Genetik teşhis sonucu**	**Final teşhis**	**Tedavi kararı**
Kesin FMF	Homozigot mutant, Heterozigot mutant Mutant olmayan	Kesin FMF	Kolşisin
Şüpheli FMF	Homozigot mutant	Kesin FMF	Kolşisin

	Heterozigot mutant Mutant olmayan	Şüpheli FMF	Kolşisin Takip ve Terapötik çalışma
FMF(-)	Homozigot mutant	Preklinik veya Düşük penetrans	Klinik ve proteinüri takibi
	Heterozigot mutant Mutant olmayan	Taşıyıcı FMF(-)	Takip ve tedavi verilmez

Tek heterozigot mutasyonu olup da tanı konulamayan hastalarda kolşisin tedavisine alınan yanıt tanıya yardımcıdır. Kolşisine rağmen yakınmaları devam eden hastalarda tanıdan uzaklaşılırken, kolşisin kesilmesini takip eden birkaç gün içinde atak geçiren hastalar kuvvetle AAA tanısını düşündürmektedir [11].

Klinik olarak AAA tanısı alan hastaların %15-20'sinde tek mutasyon bulunurken, %10-20' sinda ise bilinen mutasyonlara rastlanmamaktadır [29]. MEFV geninde bugüne kadar üç yüzün üzerinde mutasyon tanımlanmasına rağmen pek çok merkezde bunlardan sadece sık görülenleri bakılmaktadır. Bu mutasyonlardan 10. ekzon üzerinde bulunan dört ve 2. ekzon üzerinde bulunan bir tanesi hastalığın sık görüldüğü toplumlardaki mutasyonların %85' ini kapsamaktdır. Bu beş mutasyon M680I, M694V, M694I, V726A, E148Q'dur [28, 85]. Klinik olarak AAA düşünülen hastaların genetik taramasında ancak %80 oranında 2 mutasyon veya birleşik mutasyon görüldüğü göz önüne alınırsa kuvvetle AAA düşünülen hastalarda mutasyon bir ya da iki allelde negatif olsa da tanı kesin kabul edilerek tedavi başlanmalıdır [79].

2.8. Tedavi

Goldfinger [65] tarafından ilk kez 1972 yılında kolşisinin AAA ataklarını önlemede etkili olduğu bildirilmiştir. Kolşisin lökositler içinde yüksek konsantrasyonda bulunarak nötrofil mikrotübüllerini tespit eder ve yeni mikrotübüllere polimerizasyonu, hücre içi taşınımı, mitozu, sitokin salınımını ve kemotaksisi önler [86]. Ayrıca membran üzerindeki adezyon moleküllerinin (endotel hücrelerinde E-selektin, nötrofillerde L- selektin) ifadesini azaltarak nötrofillerin

hedef serozal dokulara bağlanmasını engeller [87]. Çayır safranının latince adı olan Colchicum, Karadeniz'in doğu kıyısında bulunan eski adı Colchis olan yerde yetiştirilen bitkiden elde edilir. Kolşisinin ilk defa 6. yüzyılda gut hastalığının tedavisinde kullanılması önerilmiştir [88].

AAA' nin atakları proflaktik kolşisin tedavisi ile önlenebilir. 0.02- 0.03 mg/kg/gün; maximum 2 mg/ gün dozunda bir veya iki doza bölünmüş şekilde kullanılması önerilir. Genellikle başlangıç dozu 5 yaş altı çocuklar için 0,5 mg/gün; 5-10 yaş için 1 mg/ gün; 10 yaş üstünde ise 1,5 mg/gün olmalıdır [45]. Kolşisin tedavisi ile hastaların %65'inde atakların remisyona girdiği; %20- 30 epizotların sayı ve şiddetinin azaldığı; %5-10'unda ise yanıt olmadığı görülür. Ayrıca amiloidoz gelişme olasılığını önemli ölçüde azaltır [45]. Gerçek etkisi ancak sürekli kullanıldığı zaman ortaya çıkmaktadır. Kolşisinin tüm yaşam boyunca kullanılması zorunludur. Sadece bir gün alınmaması bile atakla sonuçlanabilir, bu nedenle hastaların tedavi programına düzenli bir şekilde uymaları gereklidir. Tedaviye ara verilir verilmez ataklar yeniden başlamaktadır [89].

Proteinürisi olmayan ve renal fonksiyonları normal olan hastalarda AAA ataklarının önlenmesi için kolşisinin minumum başlangıç dozu yetişkinlerde 1 mg olması gerektiği belirtilmiştir [65, 88]. Çocuklarda ilacın dozu kiloya göre ayarlanmalıdır. AAA ataklarının kontrol altına alınamadığı durumlarda ilacın dozu artırılarak 2 mg'a çıkartılabilir. Günlük 2 mg'dan daha yüksek doz toksisiteyi önlemek için yalnızca kısa süreliğine verilmelidir [88]. Mümkün olan maksimum dozda karaciğer fonksiyon testleri ve serum kreatinin düzeyleri dikkatle takip edilmelidir. Kolşisin eklemler üzerinde kısmen daha az etkili olduğu için tedaviye ek olarak nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar verilmektedir [88]. Kolşisin tedavisinin en sık rastlanılan yan etkisi gastrointestinal sisteme ait olup karın ağrısı, kramp ve diyare görüldüğü bildirilmiştir [65]. Hastalar genellikle şikayetlerinde belirgin düzelmeden bahsederler ve çoğunda ataklar tamamen geçer. Bu tedavinin 16 yaş altındaki hastalarda da etkili olduğu ve çocukların gelişimini olumsuz etkilemediği saptanmıştır. GIS yan etkilerinden dolayı tedaviye uyumsuzluk olması tedavinin başarısızlığına yol açar. Kolşisin kullanan hastaların büyük çoğunluğunda diyare ve dispeptik belirtiler ve laktoz intoleransı geliştiği gösterilmiştir. Bu hastalara

laktozdan fakir diyet verilmesi semptomları azaltmıştır [90]. Ayrıca B12 malabsorbsiyonuna ve nadir vakalarda alopesiye neden olabilir. 0,1 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda akut myopati, kemik iliği hipoplazisi gibi toksik etkiler görülebilir; 0,8 mg/ kg ve üzerindeki dozlar ölümcül olabilir [91]. Toksik yan etkiler ortaya çıkarabileceğinden makrolidler, diltiazem, greyfurt ve siklosporin kolşisin ile alınmamalıdır [49]. Kolşisin başlıca karaciğerde metabolize edilir ve oral dozun yalnızca %10-25 idrarla değişmeden atılır. Karaciğer metabolizması sitokrom P450 (CYP 450) sistemi tarafından demetilasyon içermektedir [92]. Gebelik süresince kolşisin kullanımı erken doğumu ve düşük riskini azaltmaktadır. Ancak günlük kolşisin dozu azaltılarak 0.5-1 mg olması tavsiye edilmektedir [67].

Kolşisin heterozigot vakalarda ataksız dönemlerde 12-22 ay periodunda kesilebilir. Fakat bu hastaların inflamasyon ve atak açısından 3-6 ayda bir değerlendirilmesi gerekir [93].

Gasparyan ve ark. [94] tarafından yapılan çalışmada kolşisinin amiloidozun gelişmesini engellemenin yanında ateroskleroz koroner kalp hastalığı miyokard enfarktüsünü engellediği ileri sürülmüştür. Sarı ve ark. [95] tarafından yapılan çalışmada kolşisinin AAA hastalarında endotel hücre disfonksiyonunu düzenlediği ve kardiyoprotektif özelliğinin olduğu ileri sürülmüştür.

Laktasyon döneminde süte geçen miktar çok az olduğu için emzirme döneminde ilaca devam edilmelidir. İntravenöz kolşisin toksik etkilerinden dolayı sadece ameliyat öncesi ve sonrasında oral dozun mümkün olmadığı durumlarda kullanılmalıdır [64].

EULAR bildirisinde yapılan tanımlamaya göre; 6 ay süre ile max dozda kolşisin kullanmasına rağmen, ayda 1 veya daha fazla atak geçirenler vakalar kolşisin direnci olarak tanımlanmıştır. Diğer bir konu ise, bu vakalarda devam eden subklinik inflamasyonun getirdiği amiloidoz riskidir. Bu tip vakalarda max kolşisin dozu ile tedavinin yanında biyolojik ajanlar (IL-1 antagonisti gibi) tedaviye eklenmelidir [96].

2.9. AAA' nın Genetik Yönü

AAA' nin genetik mutasyonları günümüzde büyük oranda tespit edilmiştir. Klinik gereklilik halinde hastaların serum örneklerinden mutasyon analizi yapılarak tanı konulmaktadır. Hastaların genetik analizlerinde ortaya konulan bazı mutasyonlarda hastalığın agresif seyrettiği, bazı mutasyonlarda daha hafif seyrettiği bilinmektedir [39].

Fakat bununla beraber, klinik çalışmalar göstermektedir ki, genetik mutasyon tespit edilmemesi hastalığı ekarte ettirmez. Klinik olarak atak tespit edilen hastaların tedavisine Tel- Hoshomer, Livneh veyahut Yalçınkaya tanı kriterlerine uygunluk sonrası ilaç tedavisi başlanmaktadır.

2.10. Mutasyon Analizinde Kullanılan Moleküler Teknikler

Mutasyon DNA dizisinde meydana gelen kalıcı değişimdir. DNA'daki sekans varyasyonlarının saptanması hem kalıtımsal hem de genetik hastalıkların teşhisinde büyük önem taşır. Mutasyonların tarama ve saptanması amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin kendi içinde hassasiyet, çalışma süresi ve maliyet açısından avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. DNA dizi analizi mutasyon taramasında altın standart olarak kabul edilen hassasiyeti oldukça yüksek bir yöntem olmasına rağmen maliyetlidir ve çok aşamalı bir prosedür gerektirmektedir [97].

Günümüzde DNA' daki mutasyonların saptanması için kullanılan başlıca yöntemler; ARMS-PCR (Ampification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction), PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Lenght Polymorphism), Striple Mutasyon Analizi, DNA dizi analizi kullanılmaktadır.

DNA dizi analizi, gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında birçok bilgi edinmemizi sağlamıştır. 1940'larda DNA baz kompozisyonu saptama yöntemleri bulunmasına karşın DNA'daki nükleotid dizilişlerinin doğrudan kimyasal analizi 1960'larda geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin, 1965'te Robert

Holley [98] 75 nükleotidlik bir tRNA molekülünün dizisini bir yıllık bir çalışma sonucu saptayabilmiştir. 1970'lerde daha etkin ve doğrudan nükleotid dizi analizine yönelik yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Herhangi bir organizmadan çok miktarda saf DNA fragmanları elde edilmesini sağlayan rekombinant DNA tekniklerinin gelişmesine paralel olarak dizi analizi yöntemlerinin kullanımı da artmıştır. DNA dizi analizinde birbirinden farklı iki yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler; Maxam ve Gilbert'in [99] kimyasal kırılma yöntemi ve Sanger-Coulson'un [100] zincir sonlanma yöntemidir.

Allan Maxam ve Walter Gilbert 'in [101] geliştirdikleri yöntemin prensibi hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asit 'in, DNA'da bulunan bazları özgül olarak değiştirmesine ve daha sonra eklenen piperidinin değişikliğe uğramış nükleotitlerin bulunduğu noktalardan zinciri kırmasına dayanır.

DNA dizi analizinde kullanılan diğer bir yöntem de Fred Sanger [102] ve arkadaşlarının geliştirdiği zincir sonlanma yöntemidir. Dideoksi ya da zincir sonlanması reaksiyonları olarak da bilinir. Tehlikeli kimyasallardan uzak ve daha hızlı bir yöntem olduğu için Maxam-Gilbert'in [102] geliştirdiği yöntemden daha fazla kullanım alanı bulmuştur. Bu yöntem enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir.

3. MATERYAL VE METOT

2000 yılının Ocak ve 2018 yılının Ocak ayları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Kliniğinde AAA tanısıyla takip edilen hastalardan 49 hasta araştırma grubu olarak ele alındı. Bu hastaların birinci derece akrabalarında (anne, baba ve kardeşlerinde; 135 birey), AAA mutasyonları araştırıldı. AAA tanısı almamış çocuk ve bunların ebeveynlerinde, AAA mutasyonları araştırılıp, hasta popülasyonu ile mukayesesi yapıldı. Kontrol grubu olarak 30 çocuk ve onların ebeveynleri ve çalışmaya katılmayı kabul eden 6 kardeşle beraber toplam 96 kişi oluşturuldu.

AAA genetik analizi çalışılan kontrol grubundaki homozigot ve heterozigot mutasyon taşıdığı belirlenen ve şüpheli AAA kliniği olan bireyler, takip ve tedavi amaçlı ilgili polikliniklere yönlendirildi.

Bu çalışma için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (28.09.2017; Karar No: 15) onayı alındı. Belirlenen çalışmaya uygun çocukların aileleri çalışma konusunda bilgilendirildi ve Ek 1'de mevcut olan onam formu imzalatılarak onayları alındı. Tel- hashomer tanı kriterleri kullanılarak anket formu düzenlendi. Bu formda çalışmaya katılanların adı, soyadı, cinsiyeti, doğum tarihi, doğum yeri, memleketi, adres, irtibat telefonu ile ilgili bilgiler ile AAA hastalığına yönelik şikayetler sorgulandı (Ek-2). Anket formlarının dağıtımı, kontrolü, şikayetlerin sorgulanması ve genetik analiz için planlanan kan alınması işlemi tez araştırmacısı klinisyen tarafından gerçekleştirildi. İkinci aşamada çalışmaya katılanlar, Pediatrik Nefroloji Polikliniği'ne çağrıldı ve ayrıntılı anamnezleri alınarak, fizik muayeneleri yapıldı ve gerekli laboratuar tetkikleri yapılarak klinik AAA hastası olup olmadıkları aşağıdaki kriterlere göre belirlendi. Bunlar:

1. Mutasyon tespit edilen ve anket formunda belirtilen yakınmaları AAA ile uyumlu olanlar,
2. Hiçbir mutasyon tespit edilmemesine rağmen şikayetleri AAA şüphesi uyandıranlar,

3. Şikayeti olsun veya olmasın homozigot, kompleks genotip ve birleşik heterozigot genotipe sahip katılımcılardır.

3.1. Moleküler Analizler

3.1.1. Total DNA İzolasyonu

İzolasyonda kullanılan malzemeler:

1- DNA izolasyon kiti ‘’DNeasy Blood & Tissue Kit’’ (QIAGEN, GERMANY)
2- Mikrosantifirüj
3- Termomikser
4- Pipet ve pipet ucu
5- Vorteks
6- Mikrosantifirüj tüpleri (1,5 ml veya 2 ml)
7- Distile su – Etil alkol (>%96)

3.1.2. İzolasyon Protokolü

1. Mikrosantifirüj tüpünün içerisine (1,5 ml veya 2 ml’ lik), 20 ml proteinaz K pipetlendi. Üzerine 5-10 ml koagüle olmamış kan örneği eklendi. Mikrosantifirüj tüpündeki total volüm eklenen PBS solüsyonu ile 220 ml’ ye ayarlandı. RNA- free izolasyon materyali elde etmek için, 4 ml RNase A (100 mg/ml) solüsyonu eklendi ve vorteksleme sonrasında 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

2. Etonol eklenmemiş halde 200 ml Buffer AL eklendikten sonra vorteksten geçirildi ve 56°C de 10 dakika inkübe edildi.

3. Örneğe 200 ml etanol (96-100%) vorteksle karıştırılarak eklendi.

4. Üçüncü basamakta hazırlanan karışım pipet vasıtasıyla DNAeasy Mini spin kolonun içerisindeki 2 ml’lik toplama tüpüne alındı. Santifirüj işlemi 6000 x g (8000 rpm) hızında 1 dakika süreyle gerçekleştirildi. Santifirüj artıklarının biriktiği toplama tüpü atıldı.

5. DNAeasy Mini spin kolonu yeni bir 2 ml' lik toplama tüpüne alındı, 500 ml Buffer AW1 eklendi, santifirüj işlemi 6000 x g (8000 rpm) hızında 1 dakika süreyle gerçekleştirildi. Santifirüj artıklarının biriktiği toplama tüpü atıldı.

6. DNAeasy Mini spin kolonu yeni bir 2 ml' lik toplama tüpüne alındı, 500 ml Buffer AW1 eklendi, santifirüj işlemi 20000 x g (14000 rpm) hızında 3 dakika süreyle gerçekleştirildi. Santifirüj artıklarının biriktiği toplama tüpü atıldı.

7. DNAeasy Mini spin kolonu yeni bir 2 ml' lik toplama tüpüne alındı, 200 ml Buffer AE DNAeasy membrana pipetlenerek eklendi. Hazırlanan ürün oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildikten sonra santifirüj işlemi 6000 x g (8000 rpm) hızında 1 dk süreyle gerçekleştirildi.

8. Örnekler çalışma anına kadar -20 C' de saklandı.

3.1.3. Spektrofotometride İzole Edilen DNA Örneklerinin Konsantrasyonunun Kantitatif Ölçümü

1. İzole edilen DNA' lar 1/600 oranında dilüe edildi ve UV spektrometre cihazında DNA için spektrum aralığı 260 nm ve protein için 280 nm dalga boylarında absorbans değerleri ölçüldü.

2. Dalga boyu 260 nm olarak okunan absorbans değerlerinden, örneklerdeki DNA konsantrasyonu hesaplandı. Tespit edilen 260 nm OD (optik dansite) ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı, DNA' mızın protein ya da RNA ile kontamine olup olmadığıhakkında bilgi verir. Ölçümlerde A260/A280 oranının 1,8 ile 2,0 arasında olması beklenir. OD değerinin 2,0' nin üzerinde olması RNA kontraminasyonuna, 1,8' in altında olması da protein kontaminasyonuna işaret eder. PCR sonuçlarının sağlıklı çıkması için DNA' ların uygun saflıkta olması gerekmektedir.

3. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılmak üzere DNA'lar, DNA hidrasyon solüsyonu ile 50 ng/ml olacak şekilde sulandırıldı. Her bir örnek için kontrol amaçlı 2 defa okuma yapılmış olup, bu yöntemle DNA örneklerinin saflığı kontrol edildi ve miktarı saptandı.

4. DNA konsantrasyonu düşük bulunan örneklerde, istenilen değere ulaşıncaya kadar, kan örneklerinde DNA elde etme işlemleri tekrarlandı.

3.2. MEFV Geni Mutasyon Analizi

3.2.1. PCR ile MEFV Gen Bölgesinin Çoğaltılması

PCR için kullanılan karışım

1. 5X tampon 5 µl
2. MgCl (25 mM) 1,5 µl
3. dNTP 0,5 µl
4. Primer F (10 pmol) 1 µl
5. Primer R (10 pmol) 1 µl
6. Taq polimeraz 0,25 µl
7. Distile su 9 µl
8. DNA (10-50 ng/ml) 3 µl

3.2.1.2. PCR Programı

95°C	1 dakika
95°C	30 dakika
69°C	30 dakika
72°C	30 saniye (20 döngü)
95°C	30 saniye (20 döngü)
58°C	45 saniye (20 döngü)
2°C	1 dakika (20 döngü)
72°C	10 dakika (20 döngü)
4°C	∞

3.3.2. Pyrosekans Yöntemi İle Dizi A Analizi ve Mutasyonların Tespiti

Pyrosekans işleminde kullanılan malzemeler

1. 24 kuyucuklu plate (Q24 plate)
2. Mastermix solüsyonu
3. Mikrosantifirüj

4. Pipet ve pipet ucu
5. Vorteks
6. Annealing buffer
7. Distile su- Etil alkol (>%96)
8. Sekans primerleri (**Tablo 8**)

Pyrosekans protokolü

1. 24 kuyucuklu PCR plate' i veya strip kullanarak her bir kutucuğa 70 ml mastermix koyuldu.
2. Run dosyasında tanımlandığı şekilde her bir kuyucuğa 10 ml ilgili PCR ürünü eklendi.
3. Plate veya stripleri birkaç kere ters yüz ettikten sonra çalkalayıcıya koyup oda sıcaklığında 1400 rpm' de 5-10 dakika çalkalandı.
4. Q24 Plate' in her bir kuyucuğuna run dosyasında hazırlandığı şekilde 2,5 ml sekans primerleri ve 22,5 ml annealing buffer koyulur. PCR örneklerini pürifikasyondan geçirmek için sırasıyla %70'lik etanol, denatürasyon buffer' ı ve wash buffer' dan geçirildi.
5. Daha sonra vakum pompasıyla örnekler çektirilir. Sonrasında pompa kapatılarak örneklerle primerlerin karışması sağlanır.
6. Örnekler 80°C' de hibridizasyona konularak 2 dakika primerlerle örneklerin hibridize olması sağlanır. 10 dakika oda ısısında örnekler bekletilir ve Pyromark Q24 cihazına yüklenir. 45 dakika cihazda okunduktan sonra bilgisayarda Pyromark Q24 Software programında sonuçları analizi yapıldı.

Tablo 8. Çalışmada kullanılan primer dizileri

Gen bölgesi	**Primer dizisi**	**Gen bölgesinin uzunluğu**
MEFV_E2.1F MEFV_E2.1R MEFV_E2.2F MEFV_E2.2R	CTCCTCTGCCCTGAATCTTG AGGGCCTGCACTCCTTCT CCTGAGCAAACGCAGAGAG GGCCAGCCATTCTTTCTC	494bp
MEFV_E3F MEFV_E3R	AACTTGGGTTTGCCATTCAG TAATGCACCAACAACCCAGA	493bp
MEFV_E5F MEFV_E5R	AGCCCACCTCTTATCCACCT AGGCATCCTATAGGCACAG	228bp
MEFV_E10.1F MEFV_E10.1R MEFV_E10.2F MEFV_E10.2R	TACCCTGTCCCTGTTTCCTG GCTTGGGAGGCTCCTTTATT AGAATGGCTACTGGGTGGTG GTCGGCATTCCGTGACTATT	370bp

Analiz Değerlendirilmesi:

Tablo 8' da gösterilen gen bölgelerinin primer dizileri baz alınarak, hastaya ait ilgili gen bölgelerindeki baz değişimlerine bakılarak mutasyonlar tespit edilir. Mutasyonların baz değişim oranlarına göre heterozigot ve homozigot durumu belirlenir. Çalışma sonucu raporlanır.

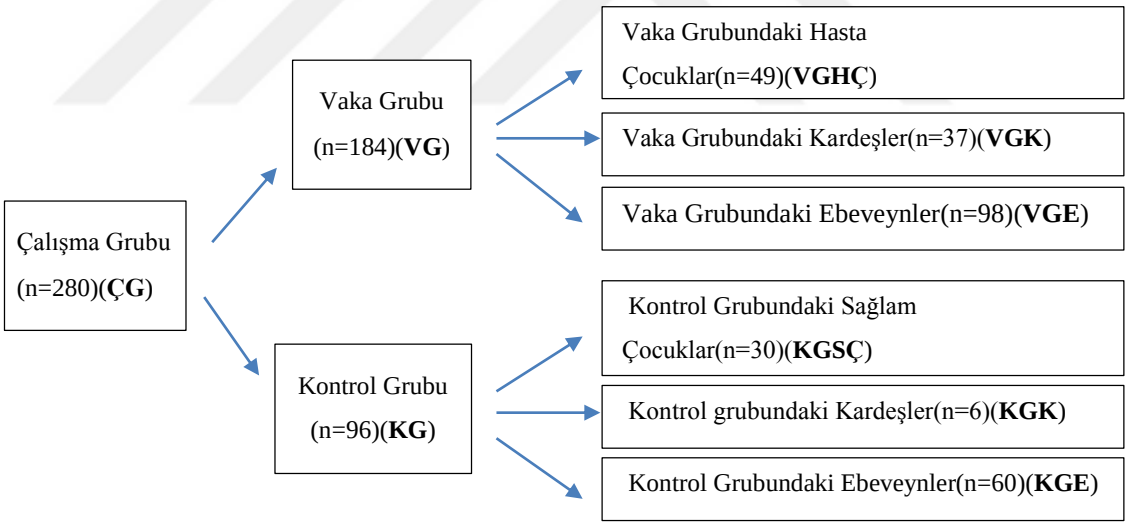
3.3. İstatistiksel Analiz

Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum, yüzde ve sayı olarak sunuldu. Kategorik değişkenler arasındaki kıyaslama ise Ki-kare testi ve Fisher's Exact test ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Çocuk Nefroloji Polikliniğine 2000-2018 yılları arasında modifiye Tel-Hoshomer kriterlerine [103] göre kesin tanı almış AAA' lı 49 hasta çocuk ve bunların 37 kardeşi olmak üzere toplam 86 çocuk ve hasta çocukların 98 ebeveyni olmak üzere toplam 184 kişi çalışmaya alındı ve bunlar **vaka grubu** olarak adlandırıldı.

Çeşitli sebeplerle (örn; üst solunum yolu enfeksiyonu) başvuran AAA tanısı almamış 30 çocuk ve 6 kardeşi toplam 36 çocuk ve bunların 60 ebeveyni ile beraber toplam 96 kişi çalışmaya dahil edildi. Bu grup kontrol grubu olarak adlandırıldı. Çalışmaya alınan vaka grubundaki çocukların yaş ortalaması 8,7 yıl (min.-maks:1-18) kontrol grubundaki çocukların yaş ortalaması; 7,2 yıl (min.-maks.: 1,1-18) idi. Aynı şekilde vaka grubundaki ebeveynlerin yaş ortalaması 35,9 yıl kontrol grubundaki ebeveynlerin yaş ortalaması 38,8 iken idi.



Şekil 8. Çalışma grubumuzun alt kümeleri

Vaka ve kontrol gruplarının demografik özellikleri **Tablo 9**' da gösterildi.

Tablo 9. Vaka ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

		Çalışma Grupları			
		Vaka grubu (VG)		Kontrol grubu (KG)	
		Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Vaka ve Kontrol Grupları	**Hasta ve Kontrol Çocukları**	49	%26,6	30	%31,2
	Kardeşler	37	%20,1	6	%6,2
	Ebeveynler	86	%46,7	60	%62,5
		E(%)	**K(%)**	**E(%)**	**K(%)**
Cinsiyet	**Çocuklar**	26(%53)	23(%47)	15(%50)	15(%50)
	Kardeşler	20(%54)	17(%56)	3(%50)	3(%50)
	Ebeveynler	49(%50)	49(%50)	30(%50)	30(%50)
Yaş Ortalaması (Yıl)	**Çocuklar**	8,9	-	7,3	-
	Kardeşler	8,5	-	7,0	-
	Ebeveynler	35,9	-	38,8	-

Not: K: Kız E:Erkek

Vaka grubunda; AAA'lı çocuklarda, bunların ebeveyn ve kardeşlerinde saptanan mutasyonlar ve frekansları **Tablo 10'** da gösterildi.

Tablo 10. Vaka grubunu oluşturan hasta, kardeş ve onların ebeveynlerinin MEFV gen mutasyonları sayı ve yüzdelikleri

	Vaka Grubundaki Hasta Çocuklar (n=49)		Vaka Grubundaki Ebeveynler (n=98)		Vaka Grubundaki Kardeşler (n=37)	
MUTASYON	**SAYI**	**YÜZDE**	**SAYI**	**YÜZDE**	**SAYI**	**YÜZDE**
M694V/M694V	13	%26,5	0	%0,0	3	%8,1
V726A/V726A	0	%0,0	1	%1,0	0	%0,0
M680I/M680I	1	%2,1	2	%2,1	1	%2,7
M694V/E148Q	1	%2,1	2	%2,1	0	%0,0
M694V/V726A	1	%2,1	1	%1,0	0	%0,0
M694V/R761H	2	%4,1	1	%1,0	0	%0,0
M694V/M680I	4	%8,1	1	%1,0	1	%2,7
M680I/V726A	2	%4,1	0	%0,0	1	%2,7
M694V/P369S	0	%0,0	1	%1,0	0	%0,0
E148Q/V726A	0	%0,0	0	%0,0	1	%2,7

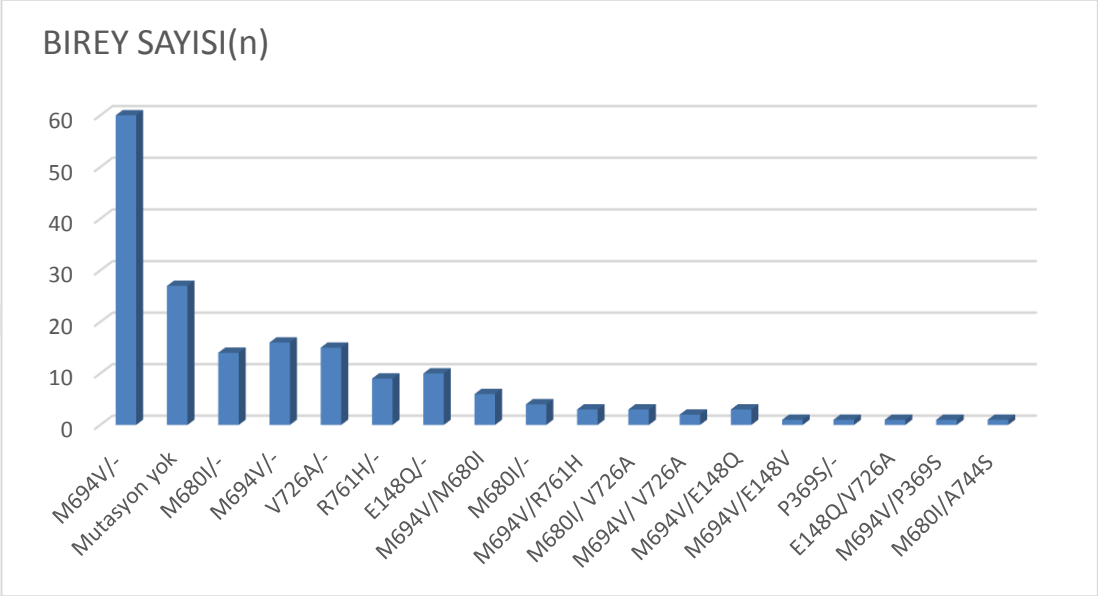
M680I/A744S	0	%0,0	1	%1,0	0	%0,0
P369S/-	1	%2,1	0	%0,0	0	%0,0
R761H/-	2	%4,1	4	%4,1	3	%8,1
M694V/-	7	%14,2	41	%41,8	12	%32,4
M680I/-	2	%4,1	8	%8,2	4	%10,8
E148Q/-	3	%6,1	6	%6,1	1	%2,7
V726A/-	3	%6,1	8	%8,2	4	%10,8
M680I(G/C)/-	3	%6,1	4	%4,1	0	%0,0
Mutasyon Var	45	%91,9	81	%82,7	31	%83,7
Mutasyon Yok	4	%8,1	17	%17,3	6	%16,3
Klinik AAA Var	49	%100	52	%53,4	21	%56,7
Klinik AAA Yok	0	%0,0	46	%46,6	16	%43,2
TOPLAM	49	%100	98	%100	37	%100

Çalışmamızda 49 kişilik vaka grubundaki hasta çocukların 45 (%91,9)' inde, 37 kardeşin 31 (%83,7)' inde MEFV mutasyonu saptandı. Vaka grubundaki 98 ebeveynden 81 (%82,6)'inde MEFV mutasyonu saptandı. Tablodan da görüleceği gibi; hasta ebeveynlerinden 3 tanesi homozigot, 7 tanesi birleşik heterozigot, 71' i ise heterozigot mutasyon taşımakta idi.

Vaka grubundaki hasta çocuklarda yapılan gen analizlerinde toplam %91,9 (45)' unda MEFV mutasyonu saptandı. %63,4 (31)' ünde heterozigot mutasyon saptanırken %28,5 (14)' nde homozigot mutasyon bulundu. Yaklaşık %8,1 (4)' inde ise herhangi bir mutasyon tespit edilmedi. Bu çocukların tümü klinik AAA tanısı ile takipli hastalar idi. Vaka grubundaki kardeşlerde ise %72,9 (27)' unda heterozigot MEFV mutasyonu saptanırken, %8,1 (3)' inde homozigot mutasyon mevcuttu. %16,3 (6)' sinde ise herhangi bir MEFV mutasyonu tespit edilmedi.

Vaka grubundaki ebeveynlerde ise %79,6 (78)' sında heterozigot mutasyon, %3,1 (3)'inde homozigot mutasyon saptandı. Ebeveynlerin %17,3 (17)' ünde ise mutasyon bulunmadı. Vaka grubu ebeveynlerinin 52' sinde klinik AAA tespit edildi. Vaka grubunda en sık M694V mutasyonu (%8,6 homozigot, %8,1 birleşik heterozigot, %32,6 heterozigot) saptanmıştır. İkinci sıklıkta M680I mutasyonu (%2,1 homozigot, %5,4 birleşik heterozigot, %7,6 heterozigot) elde edilmiştir. Üçüncü sıklıkta V726A (%0,5 homozigot, %3,2 birleşik heterozigot, %8,1 heterozigot),

E148Q (%2,1 birleşik heterozigot, %5,5 heterozigot), R761H (%4,8 heterozigot, %1,6 birleşik heterozigot), P369S (%0,5 birleşik heterozigot, 0,5 heterozigot) tespit edilmiştir. Toplam 8 farklı mutasyon tespit edilmiştir. Vaka grubunun %14,6' sında ise mutasyona rastlanmamıştır **(Şekil 9).**



Şekil 9. Vaka grubunu oluşturan hasta çocuklar, bunların kardeşleri ve ebeveynlerinde MEFV gen mutasyonlarının dağılımı

Kontrol grubumuzda ise dahil ettiğimiz toplam 96 kişinin 30' u çocuk [15(%50)' i erkek, 15(%50)' i kız] ve bunların 6 kardeşi [3(%50) kız, 3(%50) erkek] bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubu, üst solunum yolu enfeksiyonu gibi non-spesifik şikayetlerle hastaneye başvuran çocuklardan oluşturuldu. Araştırmamızın başlangıç safhasında kontrol grubundaki sağlam çocuklarda, kardeşlerinde ve ebeveynlerinde AAA fenotipini gösteren (hasta) yoktu. Ancak yapılan genetik analizler ve laboratuar tetkiklerinde kontrol grubundaki çocukların 3' ünde ve ebeveynlerin 2' sinde AAA tespit edildi.

Sağlıklı çocuklar, kardeşleri ve bunların ebeveynlerde saptanan mutasyonlar ve frekansları **Tablo 11** de gösterildi.

Tablo 11. Kontrol grubundaki bireylerin MEFV gen mutasyonları sayı ve yüzdelikleri

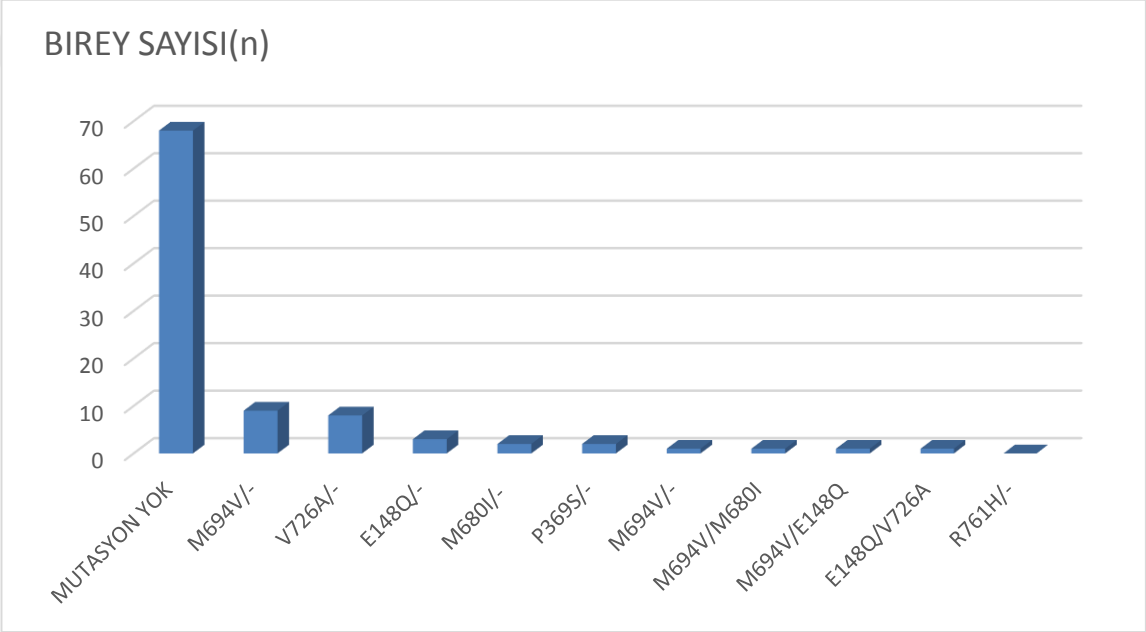
	Kontrol Grubundaki Sağlam Çocuklar (n=30)		Kontrol Grubundaki Ebeveynler (n=60)		Kontrol Grubundaki Kardeşler (=6)	
MUTASYON	**SAYI**	**YÜZDE**	**SAYI**	**YÜZDE**	**SAYI**	**YÜZDE**
M694V/M694V	1	%3,3	0	%0,0	0	%0,0
M694V/E148Q	0	%0,0	1	%1,6	0	%0,0
M694V/M680I	1	%3,3	0	%0,0	0	%0,0
M680I/V726A	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
E148Q/V726A	0	%0,0	1	%1,6	0	%0,0
M680I/A744S	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
P369S/-	0	%0,0	2	%3,3	0	%0,0
R761H/-	0	%3,3	0	%0,0	0	%0,0
M694V/-	2	%6,6	6	%10,0	1	%16,6
M680I/-	1	%3,3	1	%1,6	0	%0,0
E148Q/-	1	%3,3	2	%3,3	0	%0,0
V726A/-	3	%10,0	5	%8,3	0	%0,0
Mutasyon Yok	21	%70,0	42	%70,0	5	%83,3
Mutasyon Var	9	%30,0	18	%30	1	%16,6
Klinik AAA Yok	30	%100	60	%100	6	%100
Klinik AAA Var	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
TOPLAM	30	%100	60	%100	6	%100

Kontrol grubundaki 30 çocuktan 9 (%30,0)' unda, bunların 6 kardeşinin 1 (%16,6)' inde ve ebeveynlerinden 60' ının 18 (%30,0)' inde MEFV mutasyonu saptandı.

KGSÇ' ında %2,7 (1)' sinde homozigot mutasyon bulunurken, yaklaşık %30 (9)' unda taşıyıcılık saptanmıştır. %70 (21)' inde ise herhangi taşıyıcılık tespit edilmemiştir. KGK ise %16,6 (1)' sında heterozigot mutasyon varken %83,3 (5)' ünde MEFV mutasyonu yoktu. Homozigot MEFV mutasyonu taşıyan kardeş de yoktu. Kontrol grubundaki ebeveynlerde ise %30 (18)' unda heterozigot MEFV mutasyonu bulunurken homozigot mutasyona rastlanmamıştır (**Tablo 11**). Yine

kontrol grubundaki gen analiz sonuçları incelendiğinde taşıyıcılık oranının cinsiyetlere göre değişmediği görülmüştür.

Çalışmamızda kontrol grubunda en sık M694V mutasyonu (%9,3 heterozigot, %1,04 homozigot, %2,08 birleşik heterozigot) saptanmıştır. İkinci sıklıkta V726A heterozigot mutasyonu (%8,3 kişide heterozigot, %1,04 bileşik heterozigot), üçüncü sıklıkta M680I mutasyonu elde edilmiştir (%2,08 kişide heterozigot, %1,04 bileşik heterozigot). E148Q (%3,1 heterozigot) mutasyonu gözlenmiştir. Toplam 5 farklı mutasyon tespit edilmiştir **(Şekil 10)**.



Şekil 10. Kontrol grubunu oluşturan çocuklar, bu çocukların kardeşleri ve ebeveynlerinde saptanan MEFV gen mutasyonlarının dağılımı

Yaptığımız çalışmada vaka grubuna dahil ettiğimiz bireyler değerlendirildiğinde %97' sinin Doğu Anadolu Bölgesi' nden olup, %71.1'i Erzurum' dan katılmıştır (**Tablo 12**).

Tablo 12. Vaka ve kontrol gruplarının memleketlerine göre dağılımı

Memleket	Vaka (n=184)	Yüzde(%)	Kontrol (n=96)	Yüzde (%)
Erzurum	131	%71,1	69	%71,8
Kars	18	%9,7	3	%3,1
Erzincan	10	%5,4	0	%0,0
Ağrı	6	%3,2	15	%15,6
Bayburt	7	%3,8	4	%4,1
Iğdır	3	%1,6	3	%3,1
Balıkesir	1	%0,5	0	%0,0
Malatya	3	%1,6	0	%0,0
Ankara	2	%1,2	0	%0,0
Gümüşhane	1	%0,5	0	%0,0
Muğla	2	%1,2	1	%1,0
İstanbul	0	%0,0	1	%1,0
Yalova	1	%0,5	0	%0,0

Çalışmamızda vaka grubundaki 49 aileden ve kontrol grubundaki 30 aileden klinik AAA tanısı almamış ancak genetik olarak fenotip 3 öngörülen 5 katılımcı tespit edildi **(Tablo 13)**.

Tablo 13. Fenotip 3 vakaların gruplara göre sayıları

	Vaka grubu		Kontrol grubu	
	Sayı	**Yüzde**	**Sayı**	**Yüzde**
VGHÇ + KGSÇ	0	%0,0	1	%100
VG + KG kardeşler	2	%100	0	%0
VG + KG ebeveynler	1	%50	1	%50

Bizim çalışmamızda bulduğumuz fenotip 3 olan beş kişi vardı. Fenotip 3 olan bireylere ait özellikler **tablo 14**' de gösterilmiştir.

Tablo 14. Fenotip 3 olduğu ortaya konulan olguların genetik mutasyonları

HASTA NO	CİNSİYET	GENOTİP	AÇIKLAMA
1	Erkek	V726A/M680I	Vaka grubundaki ebeveyn
2	Erkek	V726A/M680I	Vaka grubundaki kardeş
3	Kız	M694V/M680I	Vaka grubundaki kardeş
4	Kız	M694V/M694V	Kontrol grubundaki ebeveyn
5	Erkek	E148Q/V726A	Kontrol grubundaki çocuk

Bizim çalışmamızda da çalışma grubumuz tarandığında %1,8 oranında fenotip 3 oranı olduğunu tespit ettik. Vaka grubunda 3, kontrol grubunda 2 kişide fenotip 3 mevcuttu.

Cinsiyete göre mutasyon sıklığı karşılaştırıldığında kızlarda mutasyon görülme oranı vaka grubunda %83,1 iken kontrol grubunda %29,2 bulundu. Erkeklerde mutasyon görülme olasılığı ise vaka grubunda %87,4 tespit edilirken kontrol grubunda %29,2 saptanmıştır **(Tablo 15)**. Vaka ve kontrol grupları arasında mutasyon tespit edilenler arasında cinsiyet bakımından anlamlı fark yoktu.

Tablo 15. Vaka ve kontrol grubunun cinsiyete göre MEFV mutasyon varlığı

		Mutasyon var		**Mutasyon yok**			
		Sayı(n)	Yüzde (%)	Sayı(n)	Yüzde (%)	ki-kare	P
Vaka grubu (VG)	**Erkek**	83	87,4%	12	12,6%	0,654	0,419
	Kız	74	83,1%	15	16,9%		
Kontrol grubu (KG)	**Erkek**	14	29,2%	34	70,8%	0	1,000
	Kız	14	29,2%	34	70,8%		

Tablo 16. Çalışmamızdaki tüm bireylerin MEFV mutasyon kıyaslaması

		MEFV Mutasyonu					
		Var		**Yok**			
		Sayı(n)	**Yüzde (%)**	**Sayı(n)**	**Yüzde (%)**	**ki-kare**	**P**
Vaka grubu	**Anneler**	38	77,6%	11	22,4%	3,234	0,198

(VG)	**Babalar**	43	87,8%	6	12,2%		
	Çocuklar	76	88,4%	10	11,6%		
Kontrol grubu (KG)	**Anneler**	8	26,7%	22	73,3%	0,608	0,738
	Babalar	10	33,3%	20	66,7%		
	Çocuklar	9	25,0%	27	75,0%		

Çalışmamızda vaka grubundaki mutasyon taşıyanlar ile kontrol grubundaki mutasyon taşıyanlar arasında mutasyon sıklığı açısından anlamlı fark mevcuttu (p<0,001) **(Tablo 17)**.

Tablo 17. Çalışmamızdaki tüm katılımcıların cinsiyet ve mutasyonlarının sayı ve yüzdeliklerinin kıyaslanması

		Çalışma Grupları					
		Vaka grubu		**Kontrol grubu**			
		Sayı(n)	**Yüzde(%)**	**Sayı(n)**	**Yüzde (%)**	**ki-kare**	**P**
Çalışma grubu (ÇG)	**Anneler**	49	62,0%	30	38,0%	2,19	0,334
	Babalar	49	62,0%	30	38,0%		
	Çocuklar	86	70,5%	36	29,5%		
Cinsiyet	**Erkek**	95	66,4%	48	33,6%	0,067	0,796
	Kız	89	65,0%	48	35,0%		
Mutasyon	**Mutasyon Var**	157	85,3%	27	14,7%	91,615	<0,001
	Mutasyon Yok	27	28,1%	69	71,9%		

Pediatrik Nefroloji Polikliniği' nde takip edilen AAA tanılı hastalar ile kontrol grubundaki bireylerde tespit edilen mutasyon dağılımlarına bakıldığında, vaka grubunda en sık (%49,3) M694V mutasyonu, kontrol grubunda da en sık tespit edilen (%12,4) M694V mutasyonu bulunmuştur.

Tablo 18. MEFV mutasyonlarının tüm katılımcılardaki dağılımı

Genotip	**Vaka grubu (VG) (n:184)**	**Kontrol grubu (KG) (n:96)**
Heterozigot M694V/-	60(%32,6)	9(%9,3)
E148Q/-	10(%5,4)	3(%3,1)
V726A/-	15(%8,1)	8(%8,3)

M680I/-	14(%7,6)	2(%2,1)
R761H/-	9(%4,8)	0(%0,0)
Diğer	5(%2,7)	0(%0,0)
Homozigot M694V/M694V	16(%8,7)	1(%1,1)
V726A/V726A	1(%0,5)	0(%0,0)
M680I/M680I	4(%2,1)	0(%0,0)
Birleşik M694V/V726A	2(%1,2)	0(%0,0)
Heterozigot M694V/M680I	5(%2,7)	1(%1,1)
M694V/R761H	3(%1,7)	0(%0,0)
M694V/E148Q	2(%1,2)	1(%1,1)
M680I/A726A	0(%0,0)	0(%0,0)
M680I/V726A	3(%1,7)	0(%0,0)
Diğer	3(%1,7)	3(%3,1)
Normal	32(%17,3)	68(%70,8)
Toplam	184 (%100)	96 (%100)
''-'': Diğer allelde mutasyon yok		

Vaka grubunda çocuklarla aynı mutasyonu taşıyan 81 (%82,6) ebeveyn saptanırken, kontrol grubunda 18 (%30) ebeveynde aynı mutasyonlar bulunmuştur. Anne ve babada gözlenmeyen mutasyonlardan hiçbirinin çocuklarında da gözlenmediği görülmüştür. Yani çalışmamızda sonradan oluşan mutasyon söz konusu değildi. Vaka grubunda 2 ebeveynde homozigot taşıyıcılık gözlenmiş olup, ikisinde de klinik AAA tablosu görülmüştür. Kontrol grubunda ise homozigot ebeveyne rastlanmamıştır.

Çalışma grubundaki 49 AAA'lı çocuğun, 37 kardeşi çalışmaya katılmıştı. Bunlarında 31 (%83,7)'inde MEFV mutasyonu mevcuttu ve 21 (%56,7)'inde klinik AAA tespit edildi. Aynı zamanda kontrol grubuna kabul edilen klinik AAA' sı olmayan 36 çocuğun 3 (%8,3)'inde takip süreci içerisinde AAA kliniği tespit edildi. Vaka grubundaki ebeveynlerin (**VGE**) 52 (%53)' sinde klinik olarak AAA tablosu gözükürken, kontrol grubundaki ebeveynlerde (**KGE**) klinik AAA tablosu yoktu. Fakat takip sürecinde kontrol grubu ebeveynlerinde (**KGE**) 2 (%3,3)'ünde klinik AAA ortaya çıktı.

Çalışmamızda incelenen vaka ve kontrol gruplarının genotip dağılımlarına göre değerlendirilmesinde homozigot genotipe sahip kişilerin oranı vaka grubunda %11,4, kontrol grubunda ise %1,1 olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Birleşik heterozigot olma oranlarının vaka grubunda yüksek olduğu ve ikisi arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,05$). Heterozigot genotipe sahip kişi oranları da vaka grubunda daha fazla saptandı ve iki grup arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) **(Tablo 19)**.

Tablo 19. Vaka grubuyla kontrol grubunun genotip dağılımlarına göre karşılaştırılması

		Vaka Grubu (VG)		**Kontrol Grubu (KG)**			
		N	**%**	**N**	**%**	**ki-kare**	**P**
Birleşik Heterozigot	**Var**	19	0,1	3	0,03	4,519	0,034
	Yok	165	0,9	93	0,97		
Heterozigot	**Var**	117	0,64	23	0,24	39,629	<0,001
	Yok	67	0,36	73	0,76		
Homozigot	**Var**	21	0,11	1	0,01	9,487	0,002
	Yok	163	0,89	96	0,99		

MEFV mutasyonlarının toplam 184 vaka ile toplam 96 kişilik kontrol grubu dağılımlarına bakıldığında burada M694V heterozigot mutasyonlu sayısında her iki grup arasında anlamlı derecede fark olduğu ($p<0,05$); M694V homozigot mutasyonunun hastalarda 16 kişide tespit edilmişken kontrol grubunda sadece 1 kişide bulunmuştur. Aynı şekilde burada da anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ($p<0,05$). M680I homozigot mutasyonu vaka grubundaki hastalarda 4 kişide gözlenirken, kontrol grubunda rastlanmamıştı.

Yaptığımız çalışmada vaka grubunda (n=184) ve kontrol grubundaki (n=96) katılımcıların allellerinde bulunan MEFV mutasyon yüzdeleri **Tablo 20**' de verilmiştir.

Tablo 20. Vaka ve kontrol grubundaki bireylerin MEFV allel sayıları ve yüzdeleri

Mutant allel	**Vaka grubu allel sayısı (n=368) (%)**	**Kontrol grubu allel sayısı (n=192) (%)**
M694V	107 (29,1)	11 (5,7)
M680I	39 (10,5)	2 (1)
E148Q	13 (3,5)	5 (2,6)
V726A	20 (5,4)	10 (4,6)
A744S	1 (0,2)	0
R761H	12 (3,2)	0
M680I(G/C)	7 (1,9)	0
P369S	2 (0,5)	2 (1)
Normal allel	166 (45,1)	163 (85)
Toplam allel	368 (100)	192 (100)

Vaka ve kontrol gruplarının heterozigot ve homozigot mutasyon sayıları **tablo 21**' de verilmiştir. Heterozigot taşıyıcılık açısından vaka grubundaki sayı, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede fazladır (p<0,05).

Tablo 21. Homozigot ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması

	Heterozigot					**Homozigot**				
	Vaka grubu		**Kontrol grubu**			**Vaka grubu**		**Kontrol grubu**		
	Sayı	**Yüzde**	**Sayı**	**Yüzde**	**p**	**Sayı**	**Yüzde**	**Sayı**	**Yüzde**	**P**
VGHÇ + KGSÇ	21	%72,4	8	%27,6		14	%93,3	1	%6,7	
VG + KG kardeşler	24	%96	1	%4		4	%100	0	%0,0	1,00
VG + KG ebeveynler	71	%81,6	16	%18,4	0,01	3	%100	0	%0,0	

Vaka ve kontrol gruplarımızdaki mutasyon sayıları **tablo 22**' te görülmektedir.

Tablo 22. Vaka ve kontrol gruplarında mutasyon sayıları

		Çalışma Grupları					
		Vaka grubu (n=184)		**Kontrol grubu (n=96)**			
Mutasyon varlığı		**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	**ki-kare**	**p**
VGHÇ + KGSÇ	**Mutasyon var**	45	91,8%	9	30,0%	32,893	<0,001
	Mutasyon	4	8,2%	21	70,0%		

	yok						
VG + KG kardeşler	**Mutasyon var**	31	83,8%	1	16,7%	24,589	<0,001
	Mutasyon yok	6	16,2%	5	83,3%		
VG + KG Ebeveynler	**Mutasyon var**	81	82,7%	18	30,0%	44,096	<0,001
	Mutasyon yok	17	17,3%	42	70,0%		

Çalışma grubumuzdaki vaka ve kontrol grubunun birleşik heterozigot sayıları **tablo 23'** de verilmiştir

Tablo 23. Birleşik heterozigot bireylerin sayıları

Birleşik Heterozigot	**Vaka grubu**		**Kontrol grubu**		
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	p
VGHÇ + KGSÇ	10,00	50,00	0,00	0,00	
VG + KG kardeşler	3,00	15,00	0,00	0,00	
VG + KG ebeveynler	7,00	35,00	2,00	100,00	0,42

Çalışma grubumuzdaki katılımcılarda saptanan tüm MEFV mutasyonları **tablo 24**' de görülmektedir. Homozigot, birleşik heterozigot ve heterozigot olarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 24. Heterozigot, birleşik heterozigot ve homozigot mutasyon sıklığının gruplarımızda dağılımı

		Gruplar			
		Vaka grubu		Kontrol grubu	
		Sayı	%	Sayı	%
VGHÇ + KGSÇ	V726A Heterozigot	3	50,0%	3	50,0%
	E148Q Heterozigot	3	75,0%	1	25,0%
	R761H Heterozigot	2	100,0%	0	0,0%
	M680I Heterozigot	2	66,7%	1	33,3%
	M694V Heterozigot	7	70,0%	3	30,0%
	P369S Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M680IG/C Heterozigot	3	100,0%	0	0,0%
VG + KG kardeşler	V726A Heterozigot	4	100,0%	0	0,0%
	E148Q Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	R761H Heterozigot	3	100,0%	0	0,0%
	M680I Heterozigot	4	100,0%	0	0,0%
	M694V Heterozigot	12	92,4%	1	7,6%
	P369S Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M680IG/C Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
VG + KG ebeveynler	V726A Heterozigot	8	61,5%	5	38,5%
	E148Q Heterozigot	6	75,0%	2	25,0%
	R761H Heterozigot	4	100,0%	0	0,0%
	M680I Heterozigot	8	88,9%	1	11,1%
	M694V Heterozigot	41	87,2%	6	12,8%
	P369S Heterozigot	0	0,0%	2	100,0%
	M680IG/C Heterozigot	4	100,0%	0	0,0%
VGHÇ + KGSÇ	M694V Homozigot	13	92,9%	1	7,1%
	M680I Homozigot	1	100,0%	0	0,0%
	V726A Homozigot	0	0,0%	0	0,0%
VG + KG kardeşler	M694V Homozigot	3	100,0%	0	0,0%
	M680I Homozigot	1	100,0%	0	0,0%
	V726A Homozigot	0	0,0%	0	0,0%
VG + KG ebeveynler	M694V Homozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M680I Homozigot	2	100,0%	0	0,0%
	V726A Homozigot	1	100,0%	0	0,0%
VGHÇ + KGSÇ	M680I/E148Q Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M680I/A744S Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/E148Q Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M694V/M680I Heterozigot	4	100,0%	0	0,0%
	M680I/V726A Heterozigot	2	100,0%	0	0,0%
	M694V/R761H Heterozigot	2	100,0%	0	0,0%
	E148Q/V726A Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/V726A Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	P369S/M694V Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/E184V Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M680I/E148Q Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
VG + KG kardeşler	M680I/A744S Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/E148Q Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/M680I Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M680I/V726A Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M694V/R761H Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	E148Q/V726A Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M694V/V726A Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	P369S/M694V Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/E184V Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
VG + KG ebeveynler	M680I/E148Q Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M680I/A744S Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M694V/E148Q Heterozigot	1	50,0%	1	50,0%
	M694V/M680I Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M680I/V726A Heterozigot	0	0,0%	0	0,0%
	M694V/R761H Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	E148Q/V726A Heterozigot	0	0,0%	1	100,0%
	M694V/V726A Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	P369S/M694V Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%
	M694V/E184V Heterozigot	1	100,0%	0	0,0%

5. TARTIŞMA

Kimi klinik AAA olgularında herhangi bir MEFV mutasyonu tespit edilemezken, AAA hastalığı gelişebilmektedir. Tek gen mutasyonları ile klinik tablo oluşabilmektedir ki burada beklenen homozigot MEFV gen mutasyonu ile hastalığın oluşmasıdır. Hastalıkta kalıtımın otozomal resesif olduğu bilinmektedir. Öte yandan kimi bireylerde homozigot veya birleşik heterozigot mutasyon ile klinik hastalık ortaya çıkmamaktadır. Bu bakımdan AAA, genetik kuralların dışına taşan bir hastalıktır. AAA' nde fenotipi etkileyen faktörler: kompleks genotip, genetik heterojenite, çevresel faktörler ve modifiye genlerdir. Bu durum fenotip- genotip korelasyonunu anlamayı güç hale getirmektedir [104-107].

Türk toplumunda hasta çocukların ebeveyn ve kardeşlerinde AAA mutasyon taşıyıcılığını araştıran kapsamlı bir araştırmaya rastlamadık. Bu bakımdan çalışmamız öncü bir çalışma niteliği taşımaktadır.

Hasta çocukların ebeveynleri ve kardeşlerinde mutasyon taşıyıcılığı ve mutasyon dağılımı ile ilgili olarak literatüre baktığımızda hem Türk Toplumu' nda hem de diğer etnik gruplarda çok sınırlı sayıda çalışma olduğunu gördük. [108-111]. Leila ve ark. [109]' nın araştırmasının dışındaki çalışmalar, bir değerlendirme yapabilmek için yeterli sayıda değildi.

Yaptığımız çalışmada 22 MEFV gen mutasyonu tarandı. Fakat bilinen 300' ün üzerinde MEFV mutasyonu vardır [112]. Bu çalışmamızda en sık gözlemlediğimiz mutasyonlar; M694V, M680I, V726A, E148Q sırasıyla değerlendirmeye alındı.

Çalışmamızda, allel dağılımları açısından değerlendirildiğinde VGHÇ' da M694V mutasyonu %41,8 oranındaydı (**tablo 25**). Tunca ve ark. [113] %51,4, Paşa ve ark. [114] %28,5, Yılmaz ve ark. [35] %51,6, Yalçınkaya ve ark. [115] %41, Evliyaoğlu ve ark. [116] %18,3 bulmuştu. Bu mutasyon AAA' da ağır klinik seyir ve

AA tipi amiloidoza gidiş ile ilişkili olarak bulunmuştur [117]. Çalışmamızdaki M694V mutasyon oranları Türk toplumundaki ortalamaya yakın değerdedir.

Vaka grubumuzda M680I mutasyonu %12,2 oranında bulundu. M680I mutasyonunu Tunca ve ark. [113] %14,4, Paşa ve ark. [114] %7,5, Yılmaz ve ark. [35] %9,3, Yalçınkaya ve ark. [115] %16, Evliyaoğlu ve ark. [116] %6,7 oranında tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda vaka grubunda hasta çocuklarda V726A mutasyonu %6,1 oranında bulundu. Paşa ve ark. [114] %9,6, Tunca ve ark. [34] %8,6, Yılmaz ve ark. [35] %3,1, Yalçınkaya ve ark. [115] %14, Evliyaoğlu ve ark. [116] %8,6 saptamışlardır. Türk toplumunda yapılan çalışmalarda V726A mutasyonu genellikle 2. ve 3. Sıklık derecesinde bulunmaktadır.

E148Q mutasyonu VGHÇ' de %3 oranında idi. Pasa ve ark.[114] %11,3, Yılmaz ve ark. [35] %3,2, Evliyaoğlu ve ark. [116] %30,8 tespit etmiştir. Yılmaz ve ark. [35]' nın çalışmasıyla oranlarımız birbirine çok yakın iken Evliyaoğlu ve ark. [116] ' nın çalışmasında bu oran oldukça yüksek idi. Literatürde E148Q mutasyonunun polimorfizm olduğu ve AAA hastalığı oluşturmadığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır [89]. Bizim çalışmamızda E148Q homozigot mutasyonu taşıyan bireye rastlanmadı. E148Q heterozigot mutasyonu, vaka grubundaki 3 hasta çocuk, 6 ebeveyn, 1 kardeşte mevcuttu. Ebeveyn ve kardeşlerde klinik AAA yoktu. Kontrol grubumuzda ise 2 katılımcıda mevcuttu. Bu iki katılımcıda da klinik AAA tespit edilmedi. Bu da E148Q' nun polimorfizm olduğu bulgusunu desteklemektedir.

Çalışmamızda R761H' ye %4,8 oranında rastlanmışken, Evliyoğlu ve ark. [116] %2,9, Paşa ve ark. [114] ' da %2,5 oranında gözlemlemiştir. Diğer çalışmalarda bu mutasyona rastlanmamıştı [35, 115].

Çalışmamızdaki M694V, M680I, E148Q mutasyonlarının oranları Yalçınkaya ve ark. [115] ' nın çalışmasıyla örtüşmekte idi. Fakat V726A oranı Yalçınkaya ve ark. [115] ' nın çalışmasında %14,4 iken bizim çalışmamızda sadece %6,1 idi. Bu farkın nedeninin etnik yapı ve çevresel faktörler olabileceğini

düşünmekteyiz. Türk toplumunda yapılan çalışmalarda hastalarda allel dağılımı **tablo 25**' da gösterildi.

Tablo 25. Türk toplumunda AAA hastalarında allel dağılımları

Yazar	N	Allel sayısı	M694V	V726A	M680I	E148Q	Diğer mut.
Tunca ve ark. [113]*	2838	5676	2180 (%51,4)	488 (%8,6)	463 (%14,4)	-	-
Paşa ve ark. [114]	119	238	68 (%28,5)	23 (%9,6)	18 (%7,5)	27 (%11,3)	17 (%7,1)
Yılmaz ve ark. [35]	450	900	464 (%51.6)	28 (%3.1)	84 (%9.3)	29 (%3.2)	294 (%32,7)
Yalçınkaya ve ark.[115]	167	334	137 (%41)	48 (%14)	53 (%16)	-	96 (%29)
Evliyaoğlu ve ark.[116]	104	208	38 (%18.3)	18 (%8.6)	14 (%6.7)	64 (%30.8)	42 (%20,2)
Çalışmamız	49	98	41 (%41,8)	6 (%6,1)	12 (%12,2)	3 (%3)	28(%28,5)

'' – '' işareti kontrol grubu olmadığını gösterir

***:** Türk AAA çalışma grubu

VGHÇ' da M694V mutasyonu %57,1 bulunmuştur (**tablo 26**). Touitou ve ark. [33] %45, Kishida ve ark. [20]' %45,6, Gershoni Baruch ve ark. [118] %48,6, Majeed ve ark. [119] %38 bulmuşlardır. Bulgularımızdakine benzer olarak diğer etnik gruplarda da en sık M694V mutasyonu bildirilmiştir.

Araştırmamızda vaka grubunda M680I mutasyon sıklığına bakıldığında bu mutasyon %18,3 saptanmıştır. Touitou ve ark. [33] %13, Kishida ve ark. [20] %18,4, Gershoni ve Baruch ve ark. [118] %18,3, Majeed ve ark. [119] %4,1 bulmuşlardır. M680I mutasyonu en sık Ermeni toplumunda (%19) Majeed ve ark. [119] çalışmasında gözlenmişti.

Bizim çalışmamızda V726A mutasyonu %6,1 oranında tespit edilmiştir. Touitou ve ark. [33] %11, Kishida ve ark. [20] %8,5, Gershoni- Baruch ve ark [118] %18,4 , Majeed ve ark. [119] %16,7 oranında saptanmıştı.

Vaka grubumuzdaki hastalarda E148Q mutasyonu %5,4 oranında bulunmuştur. Touitou ve ark. [33] %2, Kishida ve ark. [20] %15,4, Gershoni-Baruch ve ark. [118] %8,9, Majeed ve ark. [119] %5,1 oranında tespit etmişlerdir. Diğer etnik gruplarda yapılan çalışmalar **tablo 26'** de gösterildi.

Tablo 26. AAA' lı bireylerde tespit edilen MEFV mutasyonlarının etnik gruplardaki dağılımı

Çalışma	**Etnik gruplar**	**M694V**	**V726A**	**M680I**	**E148Q**	**Diğer mut.**
Touitou ve ark. [33]	Araplar(n=706)	141(%20)	99(%14)	49(%7)	42(%6)	26(%38)
	Yahudiler(n=1301)	845(%65)	39(%3)	13(%1)	65(%5)	260(%20)
	Ermeniler(n=378)	140(%37)	72(%19)	79(%21)	11(%3)	60(%16)
	Türkler(n=1390)	625(%45)	153(%11)	180(%13)	28(%2)	291(%21)
Kishida ve ark. [20]	Araplar(n=368)	122(%33,4)	88(%24)	34(%9,4)	60(%16,3)	62(%16,9)
	Yahudiler(n=227)	153(%67,5)	45(%20,9)	V.Y	23(%10,7)	3(%1)
	Ermeniler(n=114)	51(%44,7)	29(%25,6)	26(%23,3)	3(%2,3)	5(%4,1)
	Türkler(n=601)	274(%45,6)	51(%8,5)	110(%18,4)	92(%15,4)	72(%12,1)
Gershoni Baruch ve ark.[118]	Araplar(n=142)	21(%14,7)	42(%29,4)	26(%18,3)	20(%14)	33(%23,2)
	Yahudiler(n=150)	121(%80,6)	12(%8)	0(%0,0)	6(%4)	11(%7,4)
Majeed ve ark.[119]	Araplar(n=239)	38(%15,8)	26(%10,8)	10(%4,1)	13(%5,4)	152(%63,9)
	Aşkenazi Yahudileri(n=87)	14(%16)	33(%38)	0	7(%8)	33(%38)
	Non-Aşkenazi Yahudileri(n=216)	86(%40)	20(%9)	V.Y	13(%6)	97(%55)
	Ermeniler(n=163)	73(%45)	39(%24)	30(%19)	3(%2)	16(%10)
Çalışmamız	Türkler(n=49)	28(%57,1)	3(%6,1)	9(%18,3)	3(%5,1)	16(%33)

VY: Veri yok

Vaka grubumuzdaki hasta çocuklarda (VGHÇ) M694V homozigot mutasyonu %26,5 oranında tespit edilmiş iken, Paltacı ve ark. [120]' nın çalışmasında %13,9 idi. VGHÇ' da M680I homozigot mutasyonu %2,1 iken, Paltacı ve ark. [120] bu oranı, %2,8 idi. Hastalarda ve Paltacı [120]' nın çalışmasında V726A homozigot mutasyonu tespit edilmedi.

Yaptığımız çalışmada VGHÇ' da homozigot MEFV mutasyonu %28,5 iken, Abuhandan ve ark. [121]' nın Urfa' da yapmış olduğu çalışmada %21,5 oranında homozigot tespit edilmiştir. Leila ve ark. [109]' nın İran (Tahran)' da yapmış oldukları çalışmada %21 oranında homozigot MEFV, Zizzo ve ark. [111] İtalya' da yapmış olduğu çalışmada %16,7 oranında homozigot MEFV bulmuştur.

M694V heterozigot mutasyonu vaka grubumuzda %32,6 iken, Paltacı ve ark. [120] %31,9, Abuhandan ve ark. [121] %22,6 tespit etmiştir.

V726A heterozigot mutasyonu %8,3 oranında tespit edilmişken, Paltacı ve ark. [120] %15,2 oranında bulmuştur. E148Q heterozigot mutasyonu %8,1 oranında bulundu. Paltacı ve ark. [120] %12,5 saptamışlardır. M680I heterozigot oranlarına baktığımızda bu mutasyon bizim çalışmamızda %7.6 saptanmışken, Paltacı ve ark. [120] %2,7 oranında tespit etmiştir.

Çalışmamızda VGHÇ' da heterozigot MEFV mutasyonu %42,8 iken, çalışmamıza yakın olarak Leila ve ark. [109] %40 olarak bulmuştur. Zizzo ve ark. [111] %47,6, Abuhandan ve ark. [121] %67,7 olarak tespit etmiştir.

Araştırmamızda VGHÇ' da birleşik heterozigot MEFV mutasyonu %20,4 iken, Leila ve ark. [109] %17, Zizzo ve ark.[111] %7,1, Abuhandan ve ark.[121] %10,8 saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda, vaka grubunda VGHÇ' da %8,1 MEFV mutasyonu bulunmazken, Peru ve ark.[122]' nın çalışmasında %14,1 oranında MEFV mutasyonu tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda vaka grubunda M694V mutasyonu %49,3 oranında tespit edilmiştir. M694V (%8,6 homozigot, %8,1 birleşik heterozigot, %32,6 heterozigot) saptanmışken, kontrol grubunda da en sık M694V mutasyonu %12,4 (%1,04 homozigot, %2,08 birleşik heterozigot %9,3 heterozigot) gözlenmiştir.

Vaka grubunda ikinci sıklıkta M680I mutasyonu %15,1 (%2,1 homozigot, %5,4 birleşik heterozigot, %7,6 heterozigot) elde edilmişken; kontrol grubunda üçüncü sıklıkta M680I mutasyonu %3,12 (%2,08 kişide heterozigot, %1,04 bileşik heterozigot) oranlarında tespit edilmiştir. Vaka grubunda üçüncü sıklıkta V726A %11,8 (%0,5 homozigot, %3,2 birleşik heterozigot, %8,1 heterozigot), kontrol grubunda ikinci sıklıkta V726A %9,3 (%8,3 kişide heterozigot, %1,04 bileşik heterozigot) bulunmuştur. Vaka grubumuzda E148Q %7,6 (%2,1 birleşik heterozigot, %5,5 heterozigot) bulunurken, kontrol grubumuzda E148Q %4,1 (%3,1 heterozigot, %1 birleşik heterozigot) mutasyonu gözlenmiştir.

Vaka grubunda R761H %6,4 (%4,8 heterozigot, %1,6 birleşik heterozigot) gözlenmişken, kontrol grubunda bu mutasyona rastlanmamıştır. Vaka grubunda P369S (%0,5 birleşik heterozigot, %0,5 heterozigot); kontrol grubunda P369S (%2,08 heterozigot) tespit edilmiştir. Vaka grubumuzda katılımcıların %14,6' sında ise mutasyona rastlanmamışken; kontrol grubumuzda %71 oranında mutasyona rastlanmamıştır. Vaka grubunda toplam 8 farklı mutasyon tespit edilmişken, kontrol grubunda 5 farklı MEFV mutasyonu tespit edilmiştir.

Ülkemizde AAA hastalığı yaygın olarak görülmektedir. Örneğin, Kuzey Anadolu bandında MEFV mutasyon bulunma sıklığının 1/3 oranına yakın olmasına rağmen AAA hastalığında klinik tanı gecikmeleri, bölgesel olarak MEFV gen mutasyonlarının taraması gerekir mi? sorusunu akla getirmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubu M694V heterozigot mutasyonu 12 kişide (%12,4) saptanmıştır. Yılmaz ve ark. [35] %1,5, Turgut ve ark.[123] %3, Etem ve ark.[124] %2,9, Gök A.[89] %4 tespit etmişlerdir.

V726A heterozigot mutasyonu kontrol grubumuzda 9 bireyde (%9,3) bulunmuştur. Yılmaz ve ark. [35] %1, Turgut ve ark. [123] %1,5, Etem ve ark. [124] %0,1, Gök A.[89] %1,8 oranında saptamışlardır.

Çalışmamızda kontrol grubunda M680I heterozigot mutasyonu 3 katılımcıda (%3,12) oranında bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmalarda, Yılmaz ve ark. [35] %2,5, Turgut ve ark. [123] %1, Gök A. [89] %1,4 oranında bulmuştur.

Kontrol grubumuzda sağlıklı bireylerde E148Q heterozigot mutasyonu %4,1 gözlenmiştir. Gök ve ark. [89] E148Q heterozigot mutasyonu %8,4, Etem ve ark. [124] %12,6, Yılmaz ve ark. [35] %6, Turgut ve ark. [123] %14 oranında saptamıştır.

Kontrol grubumuzu oluşturan, sağlıklı çocuk, kardeş ve bunların ebeveynlerine bakıldığında, diğer sağlıklı kişilerden oluşan çalışmalarla benzer taşıyıcılık oranları (%29) olduğu görüldü. Sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonlarının frekansları **tablo 27**' de gösterildi.

Tablo 27. Türk Toplumu' nda sağlıklı bireylerde MEFV mutasyonları sıklıkları

	MUTASYONLAR									
	M694V	**V726A**	**M680I**	**E148Q**	**A744S**	**R761H**	**P369S**	**R202Q**	**Allel sıklığı**	**Taşıyıcılık**
Yılmaz ve ark. [35](n=100)	*3/200**	2/200	5/200	12/200	VY	VY	VY	VY	22/200	20/100
Turgut ve ark. [123](n=100)	6/200	3/200	1/200	15/200	0/200	0/200	1/200	VY	27/200	26/100
Etem ve ark. [124](n=103)	6/206	2/206	VY	12/206	VY	VY	1/206	VY	23/206	23,3/100
Gök A. [89](n=250)	20/500	7/500	7/500	25/500	7/500	4/500	3/500	2/500	79/500	27,6/100
Çalışmamız(n=96)	11/192	10/192	2/192	5/192	0/192	0/192	2/192	0/192	30/192	29/100
VY: Veri yok										
***:** Mutant allel sayısı										
****:** Toplam allel sayısı										

MEFV taşıyıcılık oranı vaka grubundaki ebeveyn, kardeşlerde (VGE+VGK) %82,9 idi. Bu oran kontrol grubunda (KGE+KGK) %28,7 idi. Aradaki fark istatistik olarak anlamlı idi ($p<0,01$). İstatistik olarak bu sonuç bize hasta çocuk, ebeveyn ve

kardeşleri çok yüksek oranlarda mutasyon taşıdığı ve gizli kalmış AAA ve amiloidoz riskine işaret etmektedir.

Öte yandan spesifik mutasyonlar değerlendirildiğinde; vaka grubundaki ebeveynlerde ve vaka grubundaki kardeşlerde (VGE+VGK) M694V mutasyonu %46,6 iken, kontrol grubundaki ebeveynler ve kontrol grubundaki kardeşlerde (KGE+KGK) %12,1 idi. M680I mutasyonunun vaka grubundaki ebeveynler ve kardeşlerdeki (VGE+VGK) oranı %15,5 iken, kontrol grubundaki ebeveynler ve kontrol grubundaki kardeşlerdeki (KGE+KGK) oranı %1,5 idi. V726A mutasyonu vaka grubundaki ebeveynler ve vaka grubundaki kardeşlerde (VGE+VGK) %11,8 iken, kontrol grubundaki ebeveyn ve kardeşlerde (KGE+KGK) bu oran %9,1 idi. E148Q mutasyonu vaka grubundaki ebeveynlerde ve vaka grubundaki kardeşlerde (VGE+VGK) %7,1 iken, kontrol grubundaki ebeveynler ve kontrol grubundaki kardeşlerde (KGE+KGK) %6 idi.

Yukarıda yapılan değerlendirmede, vaka grubunun birinci derece akrabalarında MEFV gen mutasyon oranı, değerlendirdiğimiz (M694V, M680I, V726A, E148Q) her dört mutasyon için de yüksek bulundu. Ayrıca MEFV mutasyonu taşıyıcılığı, vaka grubundaki ebeveynlerde %82,7 oranında iken, kontrol grubundaki ebeveynlerde %30 idi.

Çalışmamızda vaka grubunda ebeveynlerde M694V heterozigot mutasyonu %41,8 tespit edildi. Ebeveynlerdeki M694V heterozigot mutasyonunu Leila ve ark. [109] %25 oranında bulmuştur. Vaka grubumuzda ebeveynlerde M680I heterozigot mutasyonu %12,3 tespit edilmişken, Leila ve ark. [109] ebeveynlerde bu oran %17 idi. Vaka grubundaki ebeveynlerde V726A heterozigot mutasyonu %8,2 oranında iken, Leila ve ark. [109] %9 idi. Vaka grubumuzdaki ebeveynlerde E148Q heterozigot mutasyonu %6,1 iken, Leila ve ark. [109] %24 idi. Vaka grubundaki ebeveynlerde R761H %4,1 oranında iken, Leila ve ark. [109]' nın yapmış olduğu çalışmada %11 oranında idi.

Vaka grubumuzdaki ebeveynlerde P369S, M680I mutasyonuna rastlanmazken, Leila ve ark. [109]' nın çalışmasında P369S %5, M680I %5 oranında bulmuştur.

Leila ve ark. [109] yaptıkları İran'daki çalışmada, 43 AAA tanılı hasta ve bunların 86 ebeveyni çalışmaya katılmış idi. 43 hastanın, 9' unda homozigot (%21), 16' sında (%37) birleşik heterozigot ve 17' sinde (%40) bir mutasyon mevcuttu. Bir hastada 3 mutasyon vardı (kompleks genotip). Bizim çalışmamızda hiç kompleks genotip yoktu.

Leila ve ark. [109]' nın çalışmasına katılan 43 çocuk hastanın 41 (% 95.3)' inde ebeveynlerine benzer mutasyonlar vardı. Vaka grubumuzda 49 kişilik hasta grubundaki (**VGÇ**) 45 (%91,8) çocuk, ebeveynleriyle aynı mutasyonlara sahipti. Hasta grubundaki 4 vakada MEFV mutasyonu yoktu. İlginç bir tespit olarak bir çok ebeveynde, hasta çocuklarıyla aynı mutasyonu taşımalarına rağmen klinik AAA belirtileri yoktu. Bunun sebebini şu an açıklayamıyoruz. Ancak çevresel etmenler hastalığın ortaya çıkmasını tetikliyor olabilir.

AAA klinik belirtileri göstermeyip genetik analizde MEFV geninde iki mutasyonu olanlar, aşikar AAA kliniği göstermezlerse fenotip 3 olarak adlandırılmaktadır. Bu asemptomatik bireylere, kolşisin profilaksisi yapılmadığı için ve klinik takip eksikliği nedeniyle bunların fenotip 2' ye dönüşme riski vardır. Fenotip 3 un 1: 300 (%0,33) Aşkenazi ve 1:25 (%4) Iraklı Yahudide görüldüğü tahmin edilmektedir [125]. Biz de yaptığımız bu çalışmada hem MEFV gen sıklığı hem de fenotip 3' ün sıklığını vurgulamak istedik.

Çalışma grubumuzda 5 bireyde fenotip 3 tespit edildi. AAA' lı çocukların fenotip 3 oranı ülkemizde bilinmemekle beraber, yapılan çalışmalarda İsrail popülasyonunda %1' olduğu bildirilmiştir [51]. Bu oran çalışma grubumuzda %1,8 idi.

Camus ve ark. [51]' nın 2012' de yaptıkları çalışmada fenotip 3' ün en yaygın olarak V726A/E148Q genotipiyle ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir[51] . Bizim çalışmamızda ise vaka grubundaki ebeveynlerde 1, kontrol grubundaki ebeveynlerde 1 ve vaka grubundaki kardeşlerde 2 katılımcıda (toplam 5) fenotip 3 saptadık. Bu katılımcılardaki mutasyonlar sırasıyla V726/M680I (2), M694V/M680I (1), M694V/M694V (1), E148Q/V726A (1) idi.

Sonuç olarak, Türk toplumunda asemptomatik bireylerde MEFV geninde homozigot ve birleşik heterozigot mutasyon sıklığı düşünüldüğünden daha fazladır. Bunun ileriye dönük önemi belli değildir. Ancak fenotip 3 değerlendirilmesi için, hasta, ebeveyn ve kardeşlerde rutin olarak MEFV gen mutasyonu bakılması ve daha çok sayıda bireyi içeren çalışmaların yapılması gereklidir.

Bizim önerimiz, fenotip 3 hastalarının inflamasyon markerleri (SAA, Sedim, CRP, fibrinojen) ve proteinüri (24 saatlik idrarda) açısından yakından takip edilmesi ve gereğinde kolşisin tedavisinin hemen başlanması yönündedir. Prospektif olarak yapılan takipler bize ne kadar hastanın tip 3' ten tip 2' ye dönüştüğü konusunda bilgi verecektir.

6. SONUÇLAR

1. Sağlıklı kişileri ele aldığımız kontrol grubunda MEFV mutasyon taşıyıcılığı yüksek oranda bulundu (%29).

2. Vaka grubundaki anne, baba ve kardeşlerin mutasyon sıklığı (%82,9) kontrol grubuna (%29) oranla daha yüksek olduğu görüldü.

3. Çocuklarda yeni mutasyonların ortaya çıkmasının AAA hastaları arasında yaygın olmadığı görülmektedir.

4. Ülkemizde hasta çocukların ebeveynleri ve kardeşlerini içine alan geniş çaplı bir tarama bulunmaması, bize kıyaslamaya imkan vermemektedir. Fakat yaptığımız çalışmadan çıkartacağımız sonuç, ebeveynlerdeki hasta olma oranı (%53) ve kardeşlerdeki hasta olma oranının (%56) yüksekliğidir.

5. Çalışmamıza katılan tüm katılımcıların mutasyon dağılımlarına bakıldığında M694V mutasyonu vaka grubunda %49,3; kontrol grubunda M694V mutasyonu %12,4 oranında bulunmuştur.

6. Çalışmaya alınan, 184 kişilik vaka grubundaki, 49 AAA tanılı hasta çocuğun, 98 ebeveyninin %85' inde MEFV gen mutasyonu tespit edildi. Bu da genetik mutasyonun ebeveynlerin birinden yahut her ikisinden kalıtıldığını göstermektedir.

7. AAA klinik tablosunu gösteren bazı hastalarda, hiçbir MEFV mutasyonu gözlenmezken, bazılarında yalnızca bir mutasyon taşıdığı görüldüğü, hastalığın Mendel' in kalıtım kurallarına uymadığı anlaşılmaktadır. Yani hastalık otozomal resesif geçmesine rağmen (ki bu durumda hastalığın oluşması için homozigot mutasyon olması gerekmektedir) tek gen mutasyonu ile hastalık ortaya çıkmaktadır.

8. Bazı mutasyon türlerinin (örn, L110P, R408Q, E84K gibi) bizim çalışmamız ve diğer Türk çalışma gruplarında hiç rastlanmaması, AAA hastalığının herediter kalıtımını ve bölgesel etnik yayılımını doğrulamaktadır.

9. Hasta ebeveyn ve kardeşlerinde seyrek de olsa kontrol grubunda fenotip 3 mevcuttu. Fenotip 2’ ye dönme riski taşıması nedeniyle, hasta ailesinin AAA mutasyonu açısından taranması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Sohar, E., et al., *Familial Mediterranean fever: a survey of 470 cases and review of the literature.* The American journal of medicine, 1967. **43**(2): p. 227-253.
2. Stojanov, S. and D.L. Kastner, *Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment.* Current opinion in rheumatology, 2005. **17**(5): p. 586-599.
3. McDermott, M.F., et al., *Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes.* Cell, 1999. **97**(1): p. 133-144.
4. Kasapçopur, Ö. and N. Arısoy, *Ailesel Akdeniz Ateşi ve diğer otoenflamatuar hastalıklar Derleme.* Türk Pediatri Arşivi, 2006. **41**(1).
5. Schwabe, A.D. and R.S.J.M. Peters, *Familial Mediterranean fever in Armenians. Analysis of 100 cases.* 1974. **53**(6): p. 453-462.
6. Siegal, S.J.A.o.i.m., *Benign paroxysmal peritonitis.* 1945. **23**(1): p. 1-21.
7. Örün, E. and F. Yalcinkaya, *Familial Mediterranean Fever and amiloidosis in Turkish Medicine.* Journal of theTurkish Society of Nephrology, 2003. **12**: p. 1-7.
8. Taşpınar, N. and H. Doğan, *Doğu Anadolu Bölgesi FMF (Ailesel Akdeniz Ateşi) Hastalığı MEFV Gen Mutasyonları Dağılımlarının İncelenmesi.*
9. Goldfinger, S., *Colchicine for familial Mediterranean fever.* The New England journal of medicine, 1972. **287**(25): p. 1302-1302.
10. Marmaralı, A., *Garip bir karın ağrısı sendromu.* Türk Tıp Cem Mec, 1946(12).
11. Ben-Chetrit, E. and I. Touitou, *Familial Mediterranean fever in the world.* Arthritis Care & Research, 2009. **61**(10): p. 1447-1453.
12. Tunca, M. and P. Ataca, *Ailevi Akdeniz ateşi hastalığında son 10 yıl ve Türk Araştırmacıların katkısı: Saptamalar ve öneriler.* RAED Dergisi, 2013. **5**(1): p. 25-28.
13. Ben-Chetrit, E., I.J.A.C. Touitou, and Research, *Familial Mediterranean fever in the world.* 2009. **61**(10): p. 1447-1453.
14. Aksentijevich, I., et al., *Mutation and haplotype studies of familial Mediterranean fever reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population.* 1999. **64**(4): p. 949-962.
15. Domingo, C., et al., *Familial Mediterranean fever in the 'Chuetas' of Mallorca: a question of Jewish origin or genetic heterogeneity.* 2000. **8**(4): p. 242.
16. La Regina, M., et al., *Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy.* 2003. **11**(1): p. 50.
17. Livneh, A., et al., *A single mutated MEFV allele in Israeli patients suffering from familial Mediterranean fever and Behcet's disease (FMF-BD).* 2001. **9**(3): p. 191.
18. Touitou, I., et al., *MEFV mutations in Behçet's disease.* 2000. **16**(3): p. 271-272.
19. Milhavet, F., et al., *The infevers autoinflammatory mutation online registry: update with new genes and functions.* 2008. **29**(6): p. 803-808.
20. Kishida, D., et al., *Genotype-phenotype correlation in Japanese patients with familial Mediterranean fever: differences in genotype and clinical features between Japanese and Mediterranean populations.* 2014. **16**(5): p. 439.
21. İliçin, B., Süleymanlar, *İç Hastalıkları*. 2779-2784.
22. Soriano, A. and R.J.A.r. Manna, *Familial Mediterranean fever: new phenotypes.* 2012. **12**(1): p. 31-37.
23. Touitou, I., et al., *Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever.* Arthritis & Rheumatism, 2007. **56**(5): p. 1706-1712.

24. Ozen, S., et al., *Disease severity in children and adolescents with familial Mediterranean fever: a comparative study to explore environmental effects on a monogenic disease.* Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(2): p. 246-248.
25. Özen, S.J.A. and R.O.J.o.t.A.C.o. Rheumatology, *Changing concepts in familial mediterranean fever: Is it possible to have an autosomal-recessive disease with only one mutation?* 2009. **60**(6): p. 1575-1577.
26. Haddad, J.J., *The role of inflammatory cytokines and NF-κB/MAPK signaling pathways in the evolution of familial Mediterranean fever: Current clinical perspectives and potential therapeutic approaches.* Cellular immunology, 2009. **260**(1): p. 6-13.
27. Sarı, O.J.K.T.D., *Birinci Basamakta Ailevi Akdeniz Ateşine Genel Yaklaşım.* **2013**(2): p. 75-80.
28. Consortium, I.F., *Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever.* Cell, 1997. **90**(4): p. 797-807.
29. The French, F.M.F.C., et al., *A candidate gene for familial Mediterranean fever.* Nature Genetics, 1997. **17**(1): p. 25-31.
30. Zadeh, N., T. Getzug, and W.W. Grody, *Diagnosis and management of familial Mediterranean fever: integrating medical genetics in a dedicated interdisciplinary clinic.* Genetics in medicine, 2011. **13**(3): p. 263.
31. Dode, C., et al., *Mutations in the MEFV gene in a large series of patients with a clinical diagnosis of familial Mediterranean fever.* American Journal of Medical Genetics Part A, 2000. **92**(4): p. 241-246.
32. Genecard, *Genecard*.
33. Touitou, I.J.E.J.o.H.G., *The spectrum of familial Mediterranean fever (FMF) mutations.* 2001. **9**(7): p. 473.
34. Turkish, F.J.M., *Familial mediterranean fever (FMF) in Turkey.* 2005. **84**(1): p. 1-11.
35. Yilmaz, E., et al., *Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population.* 2001. **9**(7): p. 553.
36. Zaks, N., et al., *Analysis of the three most common MEFV mutations in 412 patients with familial Mediterranean fever.* Genetics, 2003. **5**: p. 585-588.
37. Sarı, O., *Birinci Basamakta Ailevi Akdeniz Ateşine Genel Yaklaşım.* Konuralp Tıp Dergisi, 2013. **2013**(2): p. 75-80.
38. Marek-Yagel, D., et al., *Is E148Q a benign polymorphism or a disease-causing mutation?* 2009. **36**(10): p. 2372-2372.
39. Gershoni-Baruch, R., et al., *The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever.* 2002. **10**(2): p. 145.
40. Harris ED, B.J.R., Firestein GS, Genovese MC, Sergent JS, Ruddy S, Sledge C *Ailesel Otoinflamatuar Sendromlar in Kelley Romatoloji*. 7. baskı ed, ed. D.J. Simon Van Der Meer JWM. 2006.
41. Evans, M.D., M. Dizdaroglu, and M.S.J.M.R.R.i.M.R. Cooke, *Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance.* 2004. **567**(1): p. 1-61.
42. Kirkali, G., et al., *Oxidative DNA damage in polymorphonuclear leukocytes of patients with familial Mediterranean fever.* 2008. **44**(3): p. 386-393.
43. Haddad, J.J., R.E. Olver, and S.C.J.J.o.B.C. Land, *Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1α and NF-κB redox sensitivity evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells.* 2000. **275**(28): p. 21130-21139.
44. Kosan, C., et al., *Paraoxonase 1 and arylesterase levels in children with familial Mediterranean fever.* 2013. **17**(3): p. 375-378.

45. Kliegman RM, S.B., Joseph W St Geme III, Schor NF, Behrman RE, *Familial Mediterranean Fever, The Nelson Textbook of pediatrics*. 19 th edition ed. 2011, Philadelphia.
46. Colak, B., et al., *The relationship between the MEFV genotype, clinical features, and cytokine-inflammatory activities in patients with familial mediterranean fever.* 2008. **30**(2): p. 187-191.
47. Korkmaz, C., et al., *Acute phase response in familial Mediterranean fever.* 2002. **61**(1): p. 79-81.
48. Barakat, M., et al., *Metaraminol provocative test: a specific diagnostic test for familial Mediterranean fever.* 1984. **323**(8378): p. 656-657.
49. Soriano, A. and R. Manna, *Familial Mediterranean fever: new phenotypes.* Autoimmunity reviews, 2012. **12**(1): p. 31-37.
50. Ong, F.S., et al., *The M694V mutation in Armenian-Americans: a 10-year retrospective study of MEFV mutation testing for familial Mediterranean fever at UCLA.* Clinical genetics, 2013. **84**(1): p. 55-59.
51. Camus, D., et al., *'Silent'carriage of two familial Mediterranean fever gene mutations in large families with only a single identified patient.* 2012. **82**(3): p. 288-291.
52. Turkish, F., *Familial mediterranean fever (FMF) in Turkey.* Medicine, 2005. **84**(1): p. 1-11.
53. Schwabe, A.D. and R.S. Peters, *Familial Mediterranean fever in Armenians. Analysis of 100 cases.* Medicine, 1974. **53**(6): p. 453-462.
54. Rawashdeh, M. and H. Majeed, *Familial Mediterranean fever in Arab children: the high prevalence and gene frequency.* European journal of pediatrics, 1996. **155**(7): p. 540-544.
55. La Regina, M., et al., *Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy.* European journal of human genetics, 2003. **11**(1): p. 50.
56. Tsuchiya-Suzuki, A., et al., *Clinical and genetic features of familial Mediterranean fever in Japan.* The Journal of rheumatology, 2009.
57. Fragouli, E., et al., *Familial Mediterranean Fever in Crete: a genetic and structural biological approach in a population of 'intermediate risk'.* Clinical genetics, 2008. **73**(2): p. 152-159.
58. Chae, J.J., et al., *Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis.* Molecular cell, 2003. **11**(3): p. 591-604.
59. Kone Paut, I., et al., *Phenotype–genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features.* Rheumatology, 2000. **39**(11): p. 1275-1279.
60. Bakkaloglu, A., *Familial mediterranean fever.* Pediatric Nephrology, 2003. **18**(9): p. 853-859.
61. Saatçi, Ü., et al., *Familial Mediterranean fever in children: report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amyloidosis.* European journal of pediatrics, 1997. **156**(8): p. 619-623.
62. Ertekin, V., M.A. SelimoĞlu, and I. Pirim, *Familial Mediterranean fever in a childhood population in eastern Turkey.* Pediatrics international, 2005. **47**(6): p. 640-644.
63. Örün E, Yalçınkaya F. Türk tıbbında Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı ve amiloidoz. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2003; 12: 1-7

64. Samuels, J., et al., *Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health.* Medicine, 1998. **77**(4): p. 268-297.
65. Lidar, M. and A. Livneh, *Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements.* Neth J Med, 2007. **65**(9): p. 318-24.
66. Ben-Chetrit, E. and H. Yazici, *The liver in familial Mediterranean fever: is it involved?* Clinical and experimental rheumatology, 2017. **35**(6): p. 108.
67. Saglam, C., et al., *Recent advances in the management of children with familial Mediterranean fever.* International Journal of Clinical Rheumatology, 2013. **8**(2): p. 233.
68. Shohat, M. and G.J.J.G.i.M. Halpern, *Familial Mediterranean fever—a review.* 2011. **13**(6): p. 487.
69. Livneh, A., et al., *Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever.* Arthritis & Rheumatism, 1997. **40**(10): p. 1879-1885.
70. Livneh, A., et al., *Colchicine treatment of AA amyloidosis of familial Mediterranean fever.* Arthritis & Rheumatism, 1994. **37**(12): p. 1804-1811.
71. Grateau, G., et al., *Clinical versus genetic diagnosis of familial Mediterranean fever.* Qjm, 2000. **93**(4): p. 223-229.
72. Ben-Chetrit, E., et al., *Molecular diagnosis of FMF: lessons from a study of 446 unrelated individuals.* Clinical and experimental rheumatology, 2002. **20**(4; SUPP/26): p. S-25.
73. Dode, C., et al., *Mutations in the MEFV gene in a large series of patients with a clinical diagnosis of familial Mediterranean fever.* American journal of medical genetics, 2000. **92**(4): p. 241-246.
74. Demirkaya, E., et al., *Performance of different diagnostic criteria for familial Mediterranean fever in children with periodic fevers: results from a multicenter international registry.* The Journal of rheumatology, 2015: p. jrheum. 141249.
75. Pras, E., et al., *Clinical differences between North African and Iraqi Jews with familial Mediterranean fever.* 1998. **75**(2): p. 216-219.
76. Pras, M., et al., *Recent advances in familial Mediterranean fever.* 1984. **13**: p. 261-270.
77. Fonnesu, C., et al., *Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management.* 2009. **76**(3): p. 227-233.
78. Ozen, S., et al., *FMF50: a score for assessing outcome in familial Mediterranean fever.* 2014. **73**(5): p. 897-901.
79. Baskin, E. and U. Saatci, *Familial Mediterranean Fever.* Current Rheumatology Reviews, 2006. **2**(1): p. 101-108.
80. Simon, A., J.W. van der Meer, and J.P. Drenth, *Familial Mediterranean fever—a not so unusual cause of abdominal pain.* Best practice & research Clinical gastroenterology, 2005. **19**(2): p. 199-213.
81. Mor, A., R. Gal, and A. Livneh, *Abdominal and digestive system associations of familial Mediterranean fever.* The American journal of gastroenterology, 2003. **98**(12): p. 2594.
82. Demir, D.A.D., *Çocukluk Çağı Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklerin Belirlenmesi ve Bu Özelliklerin Sık Görülen Mutasyonlar Arasındaki İlişkilerin Araştırılması*. 2007, İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği
83. Ben-Zvi, I., et al., *Familial Mediterranean fever without MEFV mutations: a case–control study.* Orphanet journal of rare diseases, 2015. **10**(1): p. 34.

84. ERDOĞAN, Ö. and A. ÖNER, *Ailevi Akdeniz Ateşi.* Turkiye Klinikleri Journal of Pediatrics, 2002. **11**(3): p. 160-170.
85. ACAR, B.Ç., F. YALÇINKAYA, and M. EKİM, *Ailevi akdeniz ateşi patogenezi.* Turkiye Klinikleri Journal of Pediatrics, 2006. **15**(4): p. 151-155.
86. Chetrit, E., S. Bergmann, and R. Sood, *Mechanism of the anti-inflammatory effect of colchicines in rheumatic diseases: a possible new outlook through microarray analysis.* Rheumatology, 2006. **45**(3): p. 274-82.
87. Rigante, D., et al., *The pharmacologic basis of treatment with colchicine in children with familial Mediterranean fever.* European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2006. **10**(4): p. 173.
88. Ben-Chetrit, E. and M. Levy. *Colchicine: 1998 update*. in *Seminars in arthritis and rheumatism*. 1998. Elsevier.
89. A., G., *Erzurum İli Merkezi'nde Yaşayan Semptomsuz Adelosanlarda Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Gen Polimorfizminin Araştırılması*, in *Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilimdalı*. 2014, Atatürk Üniversitesi.
90. Ehrenfeld, M., et al., *The effects of long-term colchicine therapy on male fertility in patients with familial Mediterranean fever.* Andrologia, 1986. **18**(4): p. 420-426.
91. Kliegman RM, S.B., Joseph W St Geme III, Schor NF, Behrman RE eds., *Familial Mediterranean Fever in The Nelson Textbook of pediatrics*. 2011, Philadelphia.
92. Cerquaglia, C., et al., *Pharmacological and clinical basis of treatment of Familial Mediterranean Fever (FMF) with colchicine or analogues: an update.* Current Drug Targets-Inflammation & Allergy, 2005. **4**(1): p. 117-124.
93. Özen, S., E.D. Batu, and S. Demir, *Familial Mediterranean fever: recent developments in pathogenesis and new recommendations for management.* Frontiers in immunology, 2017. **8**: p. 253.
94. Sari, I., et al., *Early ultrasonographic markers of atherosclerosis in patients with familial Mediterranean fever.* Clinical rheumatology, 2007. **26**(9): p. 1467-1473.
95. Gasparyan, A.Y., et al., *Colchicine as an anti-inflammatory and cardioprotective agent.* Expert opinion on drug metabolism & toxicology, 2015. **11**(11): p. 1781-1794.
96. Özen, S., E.D. Batu, and S.J.F.i.i. Demir, *Familial Mediterranean fever: recent developments in pathogenesis and new recommendations for management.* 2017. **8**: p. 253.
97. Sümer, H. and H. Özdağ, *Nokta Mutasyonlarının Saptanmasında Yüksek çözünürlüklü Erime Ttekniğinin Verim ve Hassasiyetinin Değerlendirilmesi.*
98. Holley, R.W., et al., *Nucleotide sequences in the yeast alanine transfer ribonucleic acid.* Journal of Biological Chemistry, 1965. **240**(5): p. 2122-2128.
99. Maxam, A.M. and W. Gilbert, *A new method for sequencing DNA.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1977. **74**(2): p. 560-564.
100. Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson, *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.* Proceedings of the national academy of sciences, 1977. **74**(12): p. 5463-5467.
101. Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, *Molecular cloning: a laboratory manual*. 1989: Cold spring harbor laboratory press.
102. Klug, S. and M. Cummings, *Concepts of Genetics, Prentice Hall.* Upper Saddle River, New Jersey, 2000.
103. Livneh, A., P.J.B.P. Langevitz, and R.C. Rheumatology, *Diagnostic and treatment concerns in familial Mediterranean fever.* 2000. **14**(3): p. 477-498.
104. Berkun, Y., et al. *NOD2/CARD15 gene mutations in patients with familial Mediterranean fever*. in *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2012. Elsevier.

105. Touitou, I., et al., *The MICA region determines the first modifier locus in familial Mediterranean fever.* Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology, 2001. **44**(1): p. 163-169.
106. Marek-Yagel, D., et al., *Role of the R92Q TNFRSF1A mutation in patients with familial Mediterranean fever.* Arthritis care & research, 2010. **62**(9): p. 1294-1298.
107. Gershoni-Baruch, R., et al., *The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever.* Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology, 2003. **48**(4): p. 1149-1155.
108. Jéru, I., et al., *The risk of familial Mediterranean fever in MEFV heterozygotes: a statistical approach.* 2013. **8**(7): p. e68431.
109. Shahbaznejad, L., et al., *Familial Mediterranean Gene (MEFV) Mutation in Parents of Children with Familial Mediterranean Fever: What Are the Exceptions?* 2018. **2018**.
110. Marek-Yagel, D., et al., *Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever.* 2009. **60**(6): p. 1862-1866.
111. Zizzo, C., et al., *Misdiagnosis of familial Mediterranean fever in patients with Anderson–Fabry disease.* 2013. **83**(6): p. 576-581.
112. TOUITOU, I. *infevers*. Available from: https://infevers.umai-montpellier.fr/web/search.php?n=1.
113. Tunca, M., et al., *Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study.* 2005. **84**(1): p. 1-11.
114. Pasa, S.r., et al., *Familial Mediterranean fever gene mutations in the Southeastern region of Turkey and their phenotypical features.* 2008. **15**(1): p. 49-53.
115. Yalçınkaya, F., et al., *Genotype–phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial Mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis.* 2000. **39**(1): p. 67-72.
116. Evliyaoglu, O., et al., *Diyarbakır yöresi Ailevi Akdeniz Atesli çocuklarda MEFV gen mutasyon sıklıkları.* 2009. **36**(2).
117. Touitou, I., et al., *Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever.* 2007. **56**(5): p. 1706-1712.
118. Gershoni-Baruch, R., et al., *Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift.* 2001. **9**(8): p. 634.
119. Majeed, H.A., et al. *The spectrum of familial Mediterranean fever gene mutations in Arabs: report of a large series*. in *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2005. Elsevier.
120. Paltacı, Ü., *Ailevi akdeniz ateşi hastalarında solunum fonksiyon testi ve değerlendirmesi.* 2016.
121. Abuhandan, M., C. Kaya, and A.J.D.M.J. Güzelçiçek, *Evaluation of the MEFV gene mutations and clinical symptoms in186 patients diagnosed as familial Mediterranean fever.* 2015. **42**(1): p. 61-65.
122. Peru, H., et al., *Konya bölgesindeki ailevi Akdeniz ateşli olguların değerlendirilmesi: Klinik ve genetik çalışma.* 2008. **18**(1).
123. Turgut, T., *Ailevi Akdeniz Ateşi olan hastalarda MEFV genindeki mutasyonların sıklığı ve genotip - fenotip ilişkisi*, in *İç Hastalıkları Anabilimdalı*. 2009, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi.
124. Etem, E., et al., *Familial Mediterranean fever: a retrospective clinical and molecular study in the East of Anatolia region of Turkey.* 2010. **4**: p. 1.
125. Kogan, A., et al., *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, 2001. **102**(3): p. 272-276.

8. EKLER

EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)

Araştırmanın Adı: ''Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarının Aile Bireylerindeki Gen Mutasyonları ve Hastalardaki Gen Mutasyonları İlişkisinin Araştırılması''

Araştırmanın Konusu: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Türkler, Araplar, Ermeniler ve Yahudiler gibi Akdeniz çevresinde yaşayan ırklarda görülen, ülkemizde de bölgesel dağılım gösteren ve genetik olarak geçen bir hastalıktır. Hastalığın en sık bulguları ateşli karın ağrısı ataklarıdır. Bölgemizde sık görülen, sinsi seyreden ve farkedilmeyip tanısında gecikme olduğunda dokularda amiloid (bir çeşit protein) birikimine yol açan ve ileride bu nedenle böbrek yetmezliği gibi ciddi sorunlara sebep olabilen bir hastalıktır.

Araştırmanın Amacı: AAA genetik analizi çalışılarak, vaka ve kontrol grupları arasındaki mutasyon sıklığını kıyaslayarak MEFV geninin birinci derece akrabalar arasındaki geçişini ortaya koymaktır. Elde ettiğimiz veriler ileride yapılacak başka çalışmalara kaynak olabilecektir.

Araştırmanın Süresi: 1 yıl

Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı: 96

Araştırmada İzlenecek Yöntem: Sağlıklı çocuklar, onların kardeşi ve ebeveynlerinde AAA gen mutasyonu taşıyıcılık sıklığını araştırmak üzere yapmak istediğimiz genetik araştırmaya katılmaya sizi davet ediyoruz. Araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde çocuğunuz/çocuklarınızdan 2 mililitre kan örneği alınacaktır. Yukarıda bahsedildiği gibi böbrek yetmezliği gibi ciddi sorunlara sebep olabilen bu hastalığa yönelik mutasyon araştırılmasının yapılması çocuğunuzun yararına olacaktır. Patolojik çıkan sonuçlar için ileri inceleme amacı ile sizinle irtibat

kurulacaktır. Bu araştırma Atatürk Üniversitesi etik kurulu onayı ile Tıbbi Genetik Bölümünde yapılacaktır. Ayrıca, ekteki formda istenen bilgileride sağlamanızı rica ediyoruz. İsminiz ve bu bilgiler tamamen gizli tutulacaktır. Çalışmaya katılmanız tamamen isteğe bağlıdır. Sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. İstediğiniz zaman çalışmaya katılmaktan vazgeçebilirsiniz. Bu durumda sizden almış olduğumuz örnek imha edilecektir. Yapmak istediğimiz araştırmanın size risk getirmesi söz konusu değildir. Kan aldırmanın genelde hiçbir zararı olmamasına karşın; nadiren ve çok az kanama ve morarmaya yol açabilir. Araştırma sonucunda aranan bilgi elde edildiği takdirde, ileri tetkik amacı ile size ulaşılıp bilgi verilecektir. Genetik çalışmalarımızın kalıtsal hastalıkların temelini anlamamıza katkıda bulunarak insan sağlığına yarar sağlamasını beklemekteyiz. Bu formu imzalamadan önce, çalışmayla ilgili sorularınız varsa lütfen sorun. Daha sonra sorunuz olursa, 0442 344 7755 numaralı telefonu arayıp sorabilirsiniz. Araştırmayla ilgili haklarınız konusunda yerel etik kurullarına da danışabilirsiniz.

Adres ve telefon numaranız değişirse, bize haber vermenizi rica ederiz.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Dr. Emir Faruk TEKEOĞLU/ 05070214411 ----- Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.
Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

EK- 2

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (AAA) BULGULARINA YÖNELİK ANKET FORMU

TARİH……..:

1. Adı…….: 2. Soyadı…….: 3. Doğum tarihi…….: 4. Doğum yeri……..:

5. Adres……...:

6. İrtibat tel:

7. Memleketi……...:

8. Şu an için Erzurum'da yaşıyorsanız asıl memleketiniz neresidir? …….

9. Cinsiyeti: K ( ) E ( )

10. Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF= Familial Mediterranean Fever) hastası mısınız? EVET ( ) HAYIR ( )

11. Ateşli veya ateşsiz karın ağrısı atakları (nöbetleri= krizleri) geçiriyor musunuz ?

EVET ( ) HAYIR ( )

12. Daha önce tekrarlayıcı (ayda bir; onbeşgünde bir; haftada bir olan v.s.) karın ağrısı ataklarız (nöbetleriniz) oldu mu? EVET ( ) HAYIR ( )

13. Yine aynı şekilde tekrarlayıcı göğüs ağrısı şikayetleriniz oldu mu?

EVET ( ) HAYIR ( )

14. Bugüne kadar dizlerinizde veya diğer eklemlerinizde şişlik, kızarıklık. ağrı, ısı artışı gibi şikayetleriniz oldu mu?

EVET ( ) HAYIR ( )

15. Ayak bileklerinde ve ayaklarınızın sırtında sıcak, şiş ve kırmızı deri döküntüleriniz oldu mu?

EVET ( ) HAYIR ( )

16. Yaygın, şiddetli kas ağrılarınız oldu mu?

EVET ( ) HAYIR ( )

17. Birinci derece akrabanızda AAA (Ailevi Akdeniz Ateşi) hastalığı var mı (Tekrarlayan ve kendiliğinden geçen karın , eklem, göğüs ağrısı ve ateş atakları)

EVET ( ) HAYIR ( )

18. Daha önce AAA (Ailevi Akdeniz Ateşi= FMF= Familial Mediterranean Fever) hastalığı şüphesi ile tetkik edildiniz mi? EVET ( ) HAYIR ( )

19. Daha önce apandisit ameliyatı veya karın ağrısının nedeninin araştırılması amacıyla ameliyat geçirdiniz mi?

EVET ( ) HAYIR ( )

21. Böbrek ile ilgili bir hastalığınız var mı?

EVET ( ) HAYIR ( )