

T.C.

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FMF HASTALIĞINDA MİKORNA'LARIN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDEF ERDİK

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 1091

BALIKESİR

2025



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KABUL VE ONAY



Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde **Sedef ERDİK** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış
olan

“FMF Hastalığında miRNA’ların Rolü”

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav
Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29 /05 / 2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Doç. Dr. Ayla SOLMAZ
AVCIKURT
Balıkesir Üniversitesi
Üye (Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül
DALMIZRAK
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Zeynep MUTLU
Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 16 /06/2025 tarihinde teslim
edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi beyan ederim.

12/05/2025

Sedef ERDİK

ITHAF

Aileme...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimin ve bu tez çalışmasının her aşamasında yanımda olan, bana rehberlik eden, bilgi ve deneyimiyle akademik gelişimime katkı sağlayan ve aynı zamanda sabrı, anlayışı ve içten desteğiyle bu sürecin en büyük yol göstericisi olan değerli tez danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Doç. Dr. Ayla Solmaz Avcıkurt'a,

Derslerini büyük bir ilgi ile dinlediğim, özverisini ve desteğini her zaman hissettiğim hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül Dalmızrak'a,

Bilgi birikimi ve kıymetli tecrübeleriyle çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen ve ufkumu genişleten hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Çağla Kayabaşı'na,

Bu süreci birlikte geçirdiğim tüm arkadaşlarıma ve üniversite personeline,

Her adımında desteğinden aldığım güçle ilerlediğim ve sonsuz minnettar olduğum sevgili müstakbel eşim Cengizhan Arslaner'e ve sevgi ve güven kaynağım canım aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	ii
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Tanımı, Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi	3
2.1.1. Genetik Temel	4
2.1.2. FMF’de Tanı ve Tedavi	5
2.1.3. Pyrin Proteini, Yapısı ve Fonksiyonu	8
2.1.4. Kalıtım.....	10
2.2. mikroRNA (miRNA)	11
2.2.1. miRNA’ların Tanımı ve Genel Özellikleri.....	11
2.2.2. miRNA Biyogenezi.....	12
2.2.3 miRNA İsimlendirme Sistemi.....	13
2.2.3.1 hsa-mir-335-5p	14
2.2.3.2 hsa-mir-26b-5p	15
2.2.3.3 hsa-mir-16-5p	16
2.3 İnterlökinler	16

2.3.1 İnterlökinlerin Tanımı ve Genel Özellikleri	16
2.3.2 İnterlökinlerin Fonksiyonu ve Klinik Önemi	17
2.3.2.1 İnterlökin 36 Sitokinleri, Ekspresyonu ve Biyokimyası	18
2.3.2.2 İnterlökin 36 Reseptör Antagonisti (IL-36Ra)	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışma Dizaynı ve Örneklem Seçimi	22
3.2. RNA İzolasyonu	25
3.2.1. Örnek Hazırlama.....	25
3.2.2 İzolasyon.....	25
3.3. cDNA Sentezi	26
3.4. Gerçek Zamanlı PCR(qRT-PCR) ile Ekspresyon Analizi.....	27
3.5. IL36RN Geninin Protein Seviyesinde Gösterilmesi.....	28
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	29
4. BULGULAR.....	31
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ	42
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	454
EKLER	455

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Ailesel Akdeniz Ateşi'nde literatür taraması sonucu seçilen üç farklı miRNA'nın (hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p) ve ekspresyonlarının ve IL-36Ra proteininin miktarının incelenmesi ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmasıdır.

Çalışmaya Ocak 2021-Haziran 2024 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'ne başvuran Ailesel Akdeniz Ateşi tanısı almış 40 hasta ve Ailesel Akdeniz Ateşi tanısı olmayan 45 kontrol grubu dahil edildi ve hastalara ait kan numuneleri, Balıkesir Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nden temin edildi. Çalışma Balıkesir Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarı'nda Helsinki Deklerasyonu'na uygun olarak gerçekleştirildi. miRNA ekspresyon seviyeleri qPCR yöntemi ile ve protein seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Çalışma bulgularında, Ailesel Akdeniz Ateşi hastalarında hsa-miR-16-5p miRNA ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede arttığı, hsa-miR-335-5p ve hsa-miR-26b-5p miRNA ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede azaldığı ve IL-36Ra protein seviyesinin arttığı bulundu.

Çalışma sonuçları, hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p miRNA'larının ve IL-36Ra proteininin Ailesel Akdeniz Ateşi patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ailesel akdeniz ateşi, FMF, miRNA, IL-36Ra

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the expression levels of three different miRNAs (hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p, and hsa-miR-16-5p) selected based on literature review, as well as the quantity of IL-36Ra protein in patients with Familial Mediterranean Fever (FMF), and to compare the results with those from a healthy control group.

The study included 40 patients diagnosed with Familial Mediterranean Fever and 45 healthy controls, who applied to the Balıkesir University Genetic Disorders Evaluation Center between January 2021 and June 2024. Blood samples were obtained from the Genetic Disorders Evaluation Center at Balıkesir University. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki at the Medical Biology Laboratory of Balıkesir University. miRNA expression levels were measured using the qPCR method, while protein levels were assessed using the ELISA method.

The study findings revealed a significant increase in the expression level of hsa-miR-16-5p in FMF patients, while the expression levels of hsa-miR-335-5p and hsa-miR-26b-5p were significantly decreased. Additionally, IL-36Ra protein levels were found to be elevated.

The results suggest that hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p, hsa-miR-16-5p miRNAs and IL-36Ra protein may play an important role in the pathogenesis of Familial Mediterranean Fever.

Key Words: *Familial Mediterranean Fever, FMF, miRNA, IL-36Ra*

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

RNA: Ribonükleik asit

miRNA: mikroRNA

FMF: Familial Mediterranean Fever

AAA: Ailesel Akdeniz Ateşi

IL: İnterlökin

IL-36Ra: İnterlökin-36 Reseptör antagonisti

IL-36 α : İnterlökin 36 alfa

IL-36 β : İnterlökin 36 beta

IL-36 γ : İnterlökin 36 gama

IL-1 β : Interleukin-1 beta

ncRNA: non-coding RNA (Kodlanmayan RNA)

AGO: Argonaute protein ailesi

NF- κ B: Nuclear Factor kappa B (Nükleer Faktör kappa B)

miRISC: microRNA-Induced Silencing Complex

RISC: RNA-Induced Silencing Complex

RNA Pol II: RNA Polimeraz II

pri-miRNA: Primary mikroRNA (Birincil mikroRNA)

pre-miRNA: Precursor mikroRNA (Öncül mikroRNA)

HEN1: HUA ENHANCER 1

HST1: HASTY 1

HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee (HUGO Gen İsimlendirme Komitesi)

AML: Akut myeloid lösemi

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü alfa

RA-FLS: Rheumatoid Arthritis - Fibroblast-like Synoviocytes (Romatoid Artrit - Fibroblast Benzeri Sinoviyosit)

MMP-2: Matriks Metalloproteinaz-2

MMP-9: Matriks Metalloproteinaz -9

MI: Miyokard enfarktüsü

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase (Mitojen-Aktifleştirilmiş Protein Kinaz)

NKT hücreleri: Natural Killer T hücreleri (Doğal Öldürücü T Hücreleri)

IgE: İmmunoglobulin E

Th1: T helper 1

Th2: T helper 2

IL-1RAcP: Interleukin 1 receptor accessory proteins (İnterlökin 1 reseptör aksesuar proteinleri)

SAA: Serum Amiloid A

VUS: Variant of uncertain significance (Belirsiz öneme sahip varyant)

3' UTR: 3 Prime Untranslated Region (3 Üssü Translasyon Olmamış Bölge)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. FMF hastalığının coğrafi kökeni ve dağılımı.	4
Şekil 2.2. MEFV geni yapısı ve FMF fenotipi ile ilişkilendirilmiş varyantlar. 9	
Şekil 2.3. Pysin proteini yapısı ve fonksiyonel grupları.	10
Şekil 2.4. miRNA biyogenezi ve etki şekli	13
Şekil 2.5. IL-36R ve ligandları arasındaki etkileşimler.	19
Şekil 3.1 7 Deney planı.	24
Şekil 4.1. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-335-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.	33
Şekil 4.2. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR- hsa-miR-26b-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.	34
Şekil 4.3. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-16-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.	35
Şekil 4.4. IL36-Ra proteini düzeylerinin karşılaştırılması.	36

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Tel-Hashomer tanı kriterleri.....	6
Tablo 2.2. Livneh tanı kriterleri.....	7
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihaz listesi.	23
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihaz listesi.	23
Tablo 3.3. cDNA eldesi için PCR koşulları.....	27
Tablo 3.4. Gerçek zamanlı PCR reaksiyon koşulları.....	28
Tablo 3.5. Primerlerin nükleotit dizileri.	28
Tablo 4.1. FMF hastalarının demografik ve karakteristik özellikleri.....	31
Tablo 4.2. Hasta grubunda saptanan <i>MEFV</i> geni varyantlarının yüzdeleri...	32

1. GİRİŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), tekrarlayan ateş ve sinoviyal inflamasyonlar, serosal inflamasyonlar ya da cilt inflamasyonları ile karakterize otoinflamatuvar kalıtsal bir hastalıktır. Hastalar genellikle peritonit, plörit, perikardit veya artrit gibi akut inflamasyon belirtileri gösterirler (Özen, 2021). FMF hastalığının patofizyolojisi, esas olarak *MEFV* genindeki mutasyonların neden olduğu pyrin proteininin işlev bozukluğuna dayanır. FMF, apoptoz ve inflamasyonda rol oynayan pyrin proteinini kodlayan *MEFV* genindeki resesif mutasyonlar nedeniyle oluşur (Ben-Zvi ve Livneh, 2011).

miRNA'lar, genellikle hücre içindeki RNA işleme ve translasyon mekanizmalarını hedef alarak gen ekspresyonunu modüle ederler. Bu şekilde, hücre döngüsü, hücre farklılaşması, apoptoz gibi çeşitli hücreyel süreçlerin düzenlenmesinde kritik roller oynarlar (Bartel, 2004). miRNA'ların biyolojik önemi, gen ekspresyonunun karmaşık düzenlenmesindeki rolünden kaynaklanır. miRNA'lar, mRNA'ları hedef alarak translasyonlarını düzenleyerek veya mRNA'yı parçalayarak gen ekspresyonunu etkilerler. Bu nedenle, miRNA'ların hatalı düzenlenmesi veya fonksiyonlarındaki değişiklikler, birçok hastalıkta rol oynayabilir (Bushati ve Cohen, 2007). miRNA'ların hedef aldığı mRNA'ların tanımlanması ve miRNA-mRNA etkileşimlerinin anlaşılması, hücreyel düzenlemelerin anlaşılmasında önemli bir adımdır. Ayrıca, miRNA'ların biyolojik işlevlerinin ve hedeflerinin belirlenmesi, hastalıkların patogenezi ve tanısında potansiyel biyomarkırların belirlenmesine yol açabilir (Bartel, 2004). miRNA'lar kanser araştırmaları, nörolojik bozuklukların anlaşılması, kalp-damar hastalıkları ve enfeksiyon hastalıklarının patofizyolojisinin aydınlatılması gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle, miRNA'ların doku

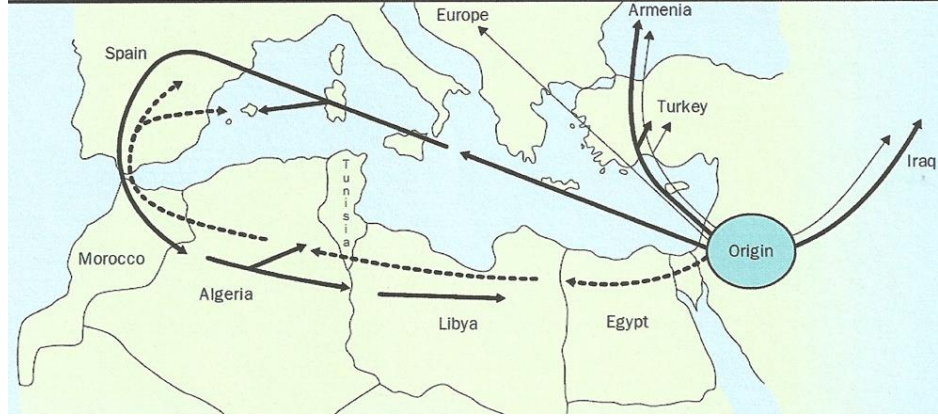
spesifik ekspresyon desenleri ve hastalık durumlarına duyarlılıkları, tanısal ve prognostik biyomarkırlar olarak potansiyel kullanımlarını desteklemektedir (Mendell ve Olson, 2012).

Bu tez çalışmasında, FMF olgularında, inflamatuvar hastalıklar, genetik hastalıklar ve otoimmün hastalıklar ile ilişkisi literatürde gösterilmiş olan üç farklı miRNA'nın (hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p, and hsa-miR-16-5p) ekspresyon düzeyleri karşılaştırmalı olarak incelenecektir. Çalışmanın temel amacı; bu miRNA'ların FMF'deki, ayırt edici potansiyelini ortaya koymak, bu moleküllerin tanı veya prognoz belirteci olarak kullanılabilirliğini değerlendirmektir. Elde edilen sonuçlar, FMF'in daha iyi anlaşılmasına ve yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, miRNA'ları hedef alan tedavi stratejileri, FMF'nin yönetiminde yeni yaklaşımlar sunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Tanımı, Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

FMF, tekrarlayan ateş ve sinoviyal inflamasyonlar, serosal inflamasyonlar ya da cilt inflamasyonları ile karakterize otoinflamatuvar kalıtsal bir hastalıktır. Hastalar genellikle peritonit, plörit, perikardit veya artrit gibi akut inflamasyon belirtileri gösterirler (Özen, 2021). Ataklar sırasında karın, göğüs veya eklemlerde şiddetli ağrı yaşanabilir (Bilginer ve Özen, 2014). Ayrıca hastalık, serum amiloid A (SAA) seviyelerinin yükselmesine ve uzun vadede amiloidoz gelişimine neden olabilir (Kallinich ve ark., 2007). FMF genellikle çocukluk veya ergenlik döneminde başlar. FMF ataklarının sıklığı ve şiddeti bireyden bireye değişebilir ve genellikle 12 ila 72 saat sürer (Ben-Zvi ve Livneh, 2011). Atak durumu belirtileri, atakların yaklaştığını veya başladığını gösterebilir. Bu belirtiler arasında halsizlik, baş ağrısı, iştahsızlık ve kas ağrısı sayılabilir. Bazı hastalarda, ataklar öncesinde ani kilo alımı veya ruh hali değişiklikleri gibi belirtiler de görülebilir (Kallinich ve ark., 2007). FMF çoğunlukla Akdeniz Bölgesi ve Orta Doğu'da görülmekle beraber, 20. yüzyıldaki yoğun nüfus hareketleri nedeniyle dünya çapında dünya çapında 100.000'den fazla insanı etkileyen küresel bir rahatsızlıktır (Booth ve ark., 2002; Samuels ve ark., 1998; Lidar ve Livneh, 2007). Türkiye'de sıklığı 1/1000, taşıyıcılık oranı 1/5'dir. Erkeklerle kadınlarda neredeyse eşit oranda görülür (1,2/1) (Tunca ve ark., 2002; Yılmaz ve ark., 2001).



Şekil 2.1. FMF hastalığının coğrafi kökeni ve dağılımı.

Şekil 1’de verilen haritada, kalın ok işareti M694V varyantının denizcilik faaliyetleri ve kara göçü yoluyla yayılımını, çizgili ok işareti M694V varyantının Müslümanların İspanya’yı fethi sırasında yayılımını ve ince ok işareti V226A varyantının yayılımını göstermektedir (Ben-Chetrit ve Levy, 1998a).

2.1.1. Genetik Temel

FMF, kromozom 16’nın kısa kolunda (16p13.3) bulunan ve 10 ekzondan oluşan *MEFV* (*MEDITERRANEAN FeVer*) genindeki mutasyonlardan kaynaklanan genetik bir hastalıktır (International FMF Consortium, 1997). FMF, apoptoz ve inflamasyonda rol oynayan pyrin proteinini kodlayan *MEFV* genindeki resesif mutasyonlar nedeniyle oluşur. Mutasyonlar pyrin domainin işlevini engelleyerek kesintisiz bir inflamasyon kaskatı başlatır (Demirkaya ve ark., 2016). Hastalık otozomal resesif bir paternde kalıtılır, ancak tipik FMF fenotipine sahip hastalar *MEFV* geninde heterozigot bir mutasyon taşıyabilir (Özçakar ve ark., 2011). “Infevers” veri tabanına göre, *MEFV* geninin 396 varyantı bulunmaktadır. Bu varyantların çoğu ekzon 2 ve ekzon 10’da yer almaktadır ve bunların yaklaşık %96’sı yerdeğiştirmelerdir. Bu varyantlar patojenik, olası patojenik, benign, olası benign veya klinik önemi belirsiz

varyantlar (VUS) olarak sınıflandırılmaktadır (Infevers – Tablolu liste [Internet], [Erişim Haziran 3 2023]). *MEFV* genindeki en yaygın mutasyonlar, ekzon 10'da bulunan M680I, M694V, M694I ve V726A ile ekzon 2'de bulunan E148Q varyantıdır (French FMF Consortium, 1997). Bu varyantlar dünya çapında FMF hastalarının %85'inden sorumludur (Ben-Chetrit ve Levy, 1998a). M694V mutasyonu dünya genelinde en sık görülen mutasyon olarak kabul edilmekle birlikte mutasyon sıklığı ülkelere, bölgelere ve etnik gruplara göre değişmektedir (Chaaban ve ark., 2024).

2.1.2. FMF'de Tanı ve Tedavi

FMF tanısı, değişken penetrans ve belirli bölgelerde yüksek *MEFV* taşıyıcı sıklığı nedeniyle, genetik testlerin tek başına kullanılmasıyla yanlış teşhise yol açabileceğinden, ağırlıklı olarak klinik bulgulara dayanmaktadır [20]. Yetişkin hastalar için çeşitli tanı kriterleri önerilmiştir, bunlar arasında en yaygın kullanılanlar klasik Tel-Hashomer ve daha güncel olan Livneh kriterleridir (Livneh ve ark., 1997; Sohar ve ark., 1967).

Tel-Hashomer klinik kriterleri, majör ve minör semptomları içerir. Majör kriterler serozit ile (peritonit, sinovit veya plörit) tekrarlayan ateşli ataklar, yatıklaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidoz ve düzenli kolşisin tedavisine olumlu yanıt, minör kriterler tekrarlayan ateşli ataklar, erizipel benzeri eritem ve birinci derece akrabada FMF olarak sınıflandırılmıştır. Bu kriterlere göre iki veya daha fazla majör semptom veya bir majör artı iki minör semptom görülmesi durumunda hastaya klinik FMF tanısı konulabilir (Bashardoust, 2015).

Tablo 2.2.1. Tel-Hashomer tanı kriterleri.

Majör Kriterler	Minör Kriterler
- Peritonit, sinovit veya plörit ile seyreden ateşli ataklar - AA tipi amiloidoz - Kolşisine cevap	- Tekrarlayan ateş atakları - Erizipel benzeri eritem - Birinci derece akrabalarda FMF öyküsü
Kesin Tanı: 2 majör veya 1 majör + 2 minör kriter Şüpheli Tanı: 1 majör + 1 minör kriter	

Livneh klinik tanı kriterleri, FMF tanısı için majör, minör ve destekleyici olmak üzere üç gruba ayrılır. Majör kriterler, ateşli ve karakteristik atakları (peritonit, plörit/perikardit, monoartrit) içerir. Minör kriterler, daha hafif atakları, egzersize bağlı bacak ağrısını ve kolşisine yanıtı kapsar. Destekleyici kriterler ise aile öyküsü, erken başlangıç yaşı, etnik köken, atak özellikleri ve geçici laboratuvar anormallikleri gibi bulgulardan oluşur. Tanı için belirli kriter kombinasyonları gerekir. Tipik ataklar tekrarlayıcı, ateşli ve kısa süreliken, inkomplet ataklar bu özelliklerden sapma gösterir; tipik olmayan ataklar tanı açısından dikkate alınmaz (Livneh ve ark., 1997).

Tablo 2.2. Livneh tanı kriterleri.

Majör Kriterler	Minör Kriterler	Destekleyici Kriterler
<ul style="list-style-type: none">- Peritonit (yaygın)- Plörit (tek taraflı) ya da perikardit- Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)- Tek başına ateş- Tam olmayan karın ağrısı atakları	<ul style="list-style-type: none">- Tam olmayan ataklar iki ya da tek bölgeyi tutabilen; Göğüs Eklem- Egzersizle ortaya çıkan bacak ağrısı- Kolşisin tedavisine olumlu yanıt	<ul style="list-style-type: none">- Ailede AAA öyküsü- Uygun etnik köken-Hastalığın 20 yaşından önce başlaması
Atak Özellikleri		
<ul style="list-style-type: none">-Ağır ve yatak istirahatını gerektiren ataklar-Kendiliğinden geçmesi- Ataklar arasındaki bulgusuz dönem- Aşağıdaki testlerden bir ya da daha fazlasında oluşan geçici inflamatuvar yanıt: lökosit, sedimentasyon hızı, serum amiloid A, fibrinojen- Aralıklı proteinüri ve hematüri- Apendektomi ya da diagnostik laparotomi öyküsü- Ailede akrabalık		
Tanı: 2 majör ya da 1 majör ve 1 minör kriter gereklidir.		

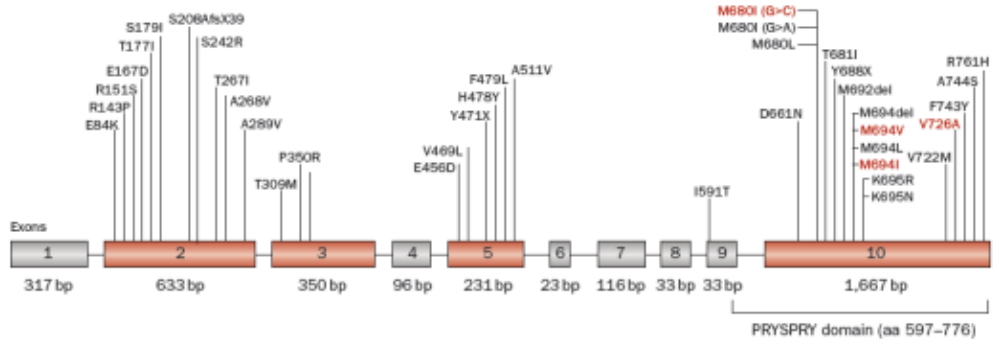
Çocuklarda FMF tanısı için ortak bir görüş olmamakla birlikte, Yalçinkaya ve ark. (2009) tarafından geliştirilen kriterlere göre, en az üç atak geçirmiş bireylerde ≥ 38 °C ateş, tekrarlayan karın/göğüs ağrısı, oligoartrit ve aile öyküsü değerlendirilir; tanı için bu beş kriterden en az ikisinin pozitif olması gerekir. Ancak, son doğrulama çalışmalarında bazı çelişkili sonuçlar olduğu için, bu kriterlerin daha fazla raporla desteklenmesi gerekmektedir. Güncel çalışmalarda, Eurofever/PRINTO grubu, yüksek duyarlılık ve özgüllükle pediatrik hastalarda FMF dahil olmak üzere otoinflamatuvar tekrarlayan ateşler için yeni kanıta dayalı sınıflandırma kriterlerini doğrulamıştır (Gattorno ve ark., 2019). Bu kriterler, tipik tekrarlayan ateş atakları, serozit (peritonit, plörit veya

sinovit) ve aile öyküsünü içerir. Klinik tanıda genetik testler özellikle *MEFV* gen mutasyonlarının tespiti de önemli bir rol oynar. Tanı, ayrıca, diğer otoinflamatuar ve enfeksiyöz hastalıkların dışlanması ile desteklenir (Livneh ve ark., 1997).

FMF hastalığının tedavisinde en yaygın kullanılan ilaç olan kolşisin, atakların sıklığını ve şiddetini azaltarak amiloidoz gelişimini önler (Ben-Chetrit ve Levy, 1998b). Kolşisine dirençli veya intolerans gösteren hastalar için anakinra veya canakinumab gibi interlökin-1 inhibitörleri alternatif tedavi seçenekleridir (Özen, 2021). Bu biyolojik ajanlar, inflammatuar yanıtı baskılayarak hastalık semptomlarını kontrol altına alır (Kılıç, 2015). FMF hastalarında tedaviye uyum ve düzenli takip, uzun vadeli komplikasyonların önlenmesi için kritik öneme sahiptir (Yalçınkaya ve ark., 2000).

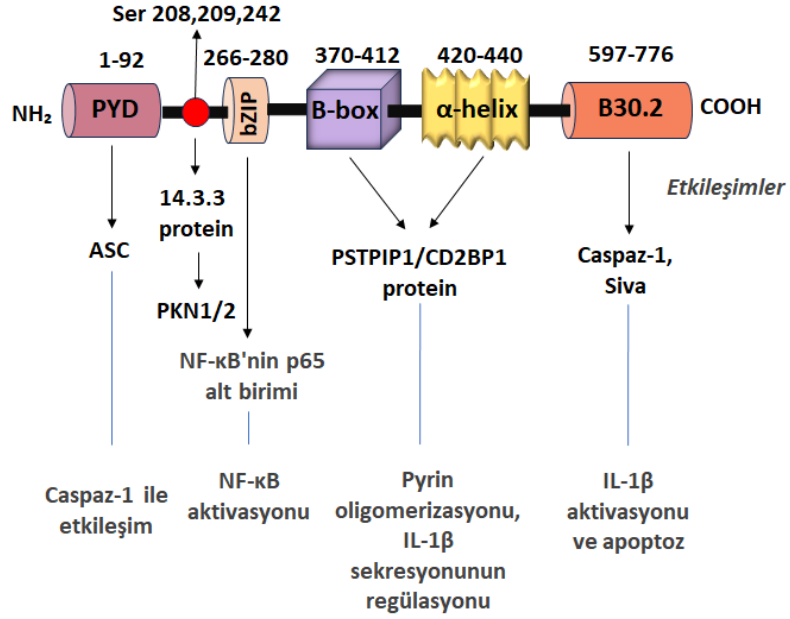
2.1.3. Pyrin Proteini, Yapısı ve Fonksiyonu

MEFV geni, insan genomunda 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) bulunan bir gendir ve 10 ekzon içerir (French FMF Consortium, 1997). *MEFV* geni, pyrin veya marenostrin olarak bilinen bir proteini kodlar, bu protein inflammatuar yanıtları düzenlemede kritik rol oynar (Centola ve ark., 2000). FMF, *MEFV* lokusundaki fonksiyon kazanımı mutasyonlardan kaynaklanan kalıtsal bir hastalıktır (Gershoni-Baruch ve ark., 2001). *MEFV*, pyrin proteinini kodlayan 10 ekzondan oluşur ve öncelikli olarak doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücrelerinde ifade edilir (Eisenstein ve ark., 2013). Pyrin, çeşitli bakteriyel toksinler veya efektörler tarafından Rho GTPazlarının inaktive edici modifikasyonlarına yanıt olarak bir kaspaz-1 aktive edici inflamazom oluşturur (Gao ve ark., 2016).



Şekil 2.2. *MEFV* geni yapısı ve FMF fenotipi ile ilişkilendirilmiş varyantlar.

Pyrin, özellikle nötrafil işlevlerini kontrol eden ve inflamatuvar süreci baskılayan bir protein olarak bilinir (Chae ve ark., 2003). *MEFV* genindeki mutasyonlar, pyrin proteininde işlev kaybına neden olarak FMF hastalığına yol açar (Livneh ve ark., 1997).



Şekil 2.3. Pyrin proteini yapısı ve fonksiyonel grupları.

FMF hastalığının patofizyolojisi, esas olarak *MEFV* genindeki mutasyonların neden olduğu pyrin proteininin işlev bozukluğuna dayanır (Ben-Zvi ve Livneh, 2011). Pyrin proteini, inflamazom adı verilen hücrel komplekslerin oluşumunu kontrol eder ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde rol oynar (Dinarello, 2009). *MEFV* mutasyonları, inflamazomların aşırı aktivasyonuna ve bu da IL-1 β salgılanmasına neden olarak inflamatuvar ataklara yol açar (Chae ve ark., 2006). Bu süreç, tekrarlayan ateş ve seröz zarların iltihaplanması gibi FMF belirtilerine neden olur (Touitou, 2001).

2.1.4. Kalıtım

Hastalığın otozomal resesif kalıtım şekli nedeniyle hastaların tek bir mutasyon için homozigot veya iki farklı mutasyon için heterozigot olması beklenir. Ancak, bir *MEFV* mutasyonu için heterozigot olan hastaların yaklaşık

%30'u, C-reaktif protein ve serum amiloid A'nın yüksek seviyeleri de dahil olmak üzere, hastalıkta gözlemlenen hafif bir inflamatuvar yanıt sergilemektedir (Marek-Yagel ve ark., 2009). Çeşitli penetranslarla baskın kalıtım gösteren aileler hakkında raporlar vardır (Aldea ve ark., 2004; Booth ve ark., 2000). Bu tutarsızlıklar, epigenetik mekanizmaların *MEFV* mutasyonlarının ifadesine ve belirgin hastalığın gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Amarilyo ve ark., 2018).

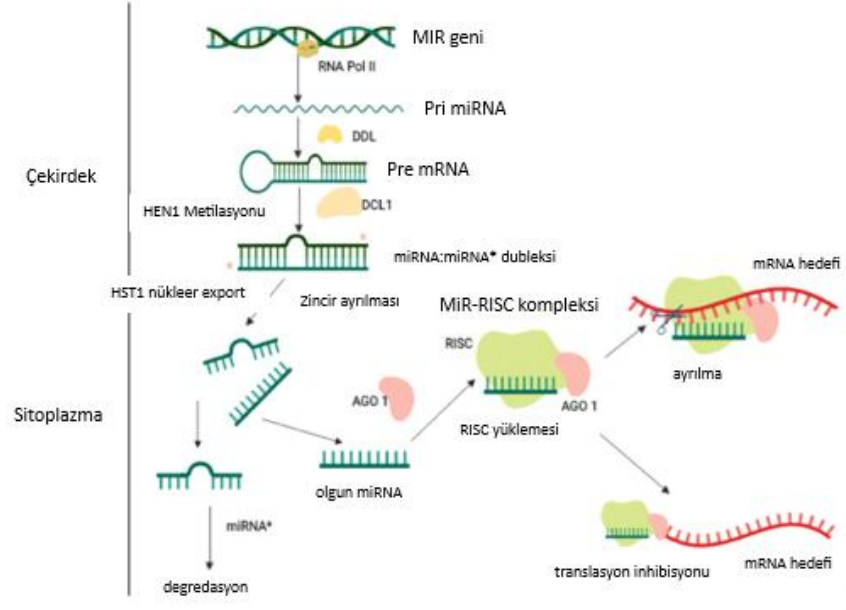
2.2. mikroRNA (miRNA)

2.2.1. miRNA'ların Tanımı ve Genel Özellikleri

MikroRNA'lar (miRNA'lar), yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda, gen susturmayı yönlendiren kısa ncRNA'lardır. Bu susturma, Argonaute (AGO) proteinlerini mRNA'ların 3' transkripte edilmemiş bölgesindeki (UTR) hedef bölgelerine yönlendirerek gerçekleşir. AGO'lar, tek sarmallı küçük nükleik asitleri, susturulmak istenen RNA veya DNA'daki tamamlayıcı dizilere rehber olarak kullanan büyük bir protein ailesini oluşturur (Swarts ve ark., 2014). miRNA ile yüklü AGO, miRNA kaynaklı susturma kompleksinin (miRISC) hedefleme modülünü oluşturur ve bu kompleks, hedef mRNA'ların translasyon baskılanması ve degradasyon süreçlerini destekler (Jonas ve Izaurralde, 2015). miRNA ilk kez, *Caenorhabditis elegans*'ta lin-4 geni tarafından üretilen ve lin-14 mRNA'sını transkripsiyon sonrası baskılayan kısa bir RNA olarak keşfedilmiştir (Lee ve ark., 1993; Wightman ve ark., 1993). Sonraki araştırmalar, farklı hayvan gruplarında da bu küçük RNA'ların bol miktarda bulduklarını göstermiştir (Pasquinelli ve ark., 2000). Bu yeni düzenleyici sınıf daha sonra mikroRNA (miRNA) olarak adlandırılmıştır (Lagos-Quintana ve ark., 2001; Lau ve ark., 2001; Lee ve Ambros, 2001).

2.2.2. miRNA Biyogenezi

miRNA'lar, protein kodlayan genlerin ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde regüle eden küçük, kodlamayan RNA dizileridir. Bu moleküller, RNA polimeraz II ve III tarafından genom dizilerinden transkribe edilerek primer miRNA'lar (pri-miRNA) şeklinde üretilir ve ardışık enzimatik işlemlerle miRNA öncüllerine (pre-miRNA) ve olgun miRNA'lara (~19–22 nükleotid) dönüştürülür. Pri-miRNA'lar, genomun intergenik bölgelerinde veya konak genlerin intronlarında kodlanabilir (Ha ve Kim, 2014; Lee ve ark., 2002). MikroRNA'ların olgunlaşma süreci, nükleer RNaz III enzimi olan Drosha tarafından düzenlenir. Pre-miRNA'lar daha sonra Dicer enzimi tarafından sitoplazmada kesilerek çift sarmallı miRNA'lar oluşturulur. Bu çift sarmallı miRNA'lar, Argonat proteini ile birleşerek RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC)'i oluşturur (Hammond ve ark., 2001; Tabara ve ark., 1999). Bu süreçte çift sarmallı miRNA'lar ayrışır ve böylece olgun miRNA tek sarmalları meydana gelir. miR-RISC kompleksi, miRNA aracılı susturma mekanizmasının temel bileşenidir (Kawamata ve Tomari, 2010). miRNA'lar, hedef mRNA'ları baskılayarak translasyon inhibisyonuna veya mRNA yıkımına neden olur (O'Brien ve ark., 2018). Hedef tanıma, genellikle miRNA ile mRNA'nın 3' UTR arasındaki kusurlu baz eşleşmesi yoluyla gerçekleşir. Bu küçük RNA molekülleri, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde önemli roller oynar. Ayrıca, anormal miRNA ekspresyonu, otoinflamatuar hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli immün aracılı inflamatuvar hastalıkların patogeneziinde yer almaktadır (Saad ve ark., 2023).



Şekil 2.4. miRNA biyogenezi ve etki şekli (Chaudhary ve ark., 2021).

miRNA'lar neredeyse tüm hücrel süreçlerde rol oynar ve organizma gelişimi, hücre farklılaşması ve homeostaz için gereklidir. miRNA veri tabanı miRBase, Homo sapiens'te 1.917 öncü miRNA (pre-miRNA) ve 2.654 olgun miRNA listeler (Kozomara ve Griffiths-Jones, 2014) ve insan protein kodlayan genlerinin %60'ından fazlasında öngörülen miRNA hedef bölgeleri bulunur (Friedman ve ark., 2009).

2.2.3 miRNA İsimlendirme Sistemi

miRNA'ların isimlendirilmesi, ilk olarak 2001 yılında *Caenorhabditis elegans* üzerinde yapılan çalışmalarla başlamıştır. Bu süreçte, miRNA Registry kurulmuş ve daha sonra miRBase'e evrilmiştir. miRBase, yeni keşfedilen miRNA'lara benzersiz isimler atayan ve bu bilgileri merkezi bir veritabanında toplayan bir kaynaktır (Griffiths-Jones ve ark., 2006). miRNA'ların isimlendirilmesi, uluslararası kabul görmüş kurallar çerçevesinde

yürütülmektedir. Bu kurallar, miRNA'ların genetik kökenleri, biyosentez yolları ve dizi varyantları gibi özelliklerini dikkate alarak, tutarlı ve sistematik bir adlandırma sistemi oluşturmayı amaçlar.

miRNA isimlendirme sistemi temel terminolojisine göre, mir-#, prekürsör (hairpin) miRNA'yı ifade eder. miR-#: Olgun (mature) miRNA'yı ifade eder. MIR#: İnsan miRNA genini belirtir ve HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee) tarafından onaylanır. Tür belirteci olarak, miRNA isimlerinin başında üç harfli kısaltmalar kullanılır. miRNA'ların isimlendirilmesinde bir diğer konu, paralog ve ortolog miRNA'lardır. Paraloglar, aynı tür içinde, benzer dizilere sahip ancak farklı gen lokasyonlarında bulunan miRNA'lardır. Bu miRNA'lar, aynı numarayı paylaşır ancak sonuna harf eklenir. Ortologlar, farklı türlerde, evrimsel olarak aynı kökenden gelen miRNA'lardır. miRNA'ların isimlendirilmesinde genomik lokusu belirtmek önemlidir. Aynı olgun miRNA'yı üreten ancak genomda farklı lokasyonlarda bulunan prekürsör miRNA'lar, numara sonuna eklenen "-1", "-2" gibi sayılarla ayırt edilir. Prekürsör miRNA'nın 5' veya 3' kolundan türeyen olgun miRNA'lar, sırasıyla "-5p" veya "-3p" ekleriyle belirtilir (Seal ve ark., 2020; Yu ve ark., 2023).

2.2.3.1 hsa-mir-335-5p

hsa-miR-335-5p, çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynayan önemli bir mikroRNA'dır. Romatoid artritli hastaların periferik kanından izole edilen eksozomlarda yapılan bir çalışmada, hsa-miR-335-5p'nin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek ekspresyon gösterdiği bulunmuştur. Bu mikroRNA'nın, *SRSF4* genini hedef alarak sinovyal dokularda bu genin ekspresyonunu azalttığı ve hastalık aktivitesi ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (Zhu ve ark., 2014a). Obezite ile ilişkili inflamasyon süreçlerinde, hsa-miR-335-5p'nin adipositlerde leptin, resistin, TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar adipokinlerin etkisiyle ekspresyonunun arttığı

gösterilmiştir. Bu durum, mikroRNA'nın obeziteye bağlı inflamatuvar komplikasyonlarda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Hu ve ark., 2021). FMF gibi otoinflamatuvar hastalıklarda, çeşitli mikroRNA'ların inflamasyon süreçlerinde rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak, mevcut literatürde hsa-miR-335-5p'nin FMF veya diğer otoinflamatuvar hastalıklarla doğrudan ilişkisini gösteren spesifik çalışmalar bulunmamaktadır. Bu nedenle, hsa-miR-335-5p'nin otoinflamatuvar hastalıklardaki rolünü belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

2.2.3.2 hsa-mir-26b-5p

hsa-miR-26b-5p, çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli roller oynayan bir mikroRNA'dır. Romatoid artritli hastaların sinovyal dokularında yapılan bir çalışmada, hsa-miR-26b-5p ekspresyonunun sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Bu mikroRNA'nın, EZH2 genini hedef alarak RA-FLS (fibroblast benzeri sinovyal hücrelerin) proliferasyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, hsa-miR-26b-5p'nin pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17) ve matris metalloproteinazların (MMP-2, MMP-9) ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Ge ve ark., 2019). Miyokard enfarktüsü sonrası inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde hsa-miR-26b'nin rolü incelenmiştir. Bir hayvan modelinde, hsa-miR-26b'nin PTGS2 genini hedef alarak MAPK sinyal yolunu baskıladığı ve bu yolla inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, hsa-miR-26b'nin kardiyak remodeling süreçlerinde koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Chen ve ark., 2016). hsa-miR-26 ailesinin, özellikle hsa-miR-26b'nin, NF- κ B sinyal yolunu düzenleyerek inflamasyonu modüle ettiği gösterilmiştir. Bu mikroRNA'nın, HMGA1 ve MALT1 genlerini hedef alarak TNF- α aracılı IL-6 üretimini azalttığı ve böylece inflamatuvar yanıtı baskıladığı rapor edilmiştir (Li ve ark., 2021).

2.2.3.3 hsa-mir-16-5p

hsa-miR-16-5p, hücresel apoptoz, inflamasyon ve genetik hastalıkların patogeneğinde önemli roller oynayan, yaygın olarak çalışılmış bir mikroRNA'dır. Koroner arter hastalığı olan bireylerin periferik kan monositlerinde yapılan bir çalışmada, hsa-miR-16-5p ekspresyonunun azaldığı ve inflamatuvar yanıtın arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, hsa-miR-16-5p'nin inflamasyonu baskılayıcı bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Cao ve ark., 2021). Hipoksi/reoksijenasyon ile indüklenen kardiyomyositlerle ilgili yapılan bir çalışmada, hsa-miR-16-5p'nin PTPN4 genini hedef alarak apoptoz ve otofajiyi düzenlediği gösterilmiştir. Bu bulgular, hsa-miR-16-5p'nin kardiyovasküler hastalıklarda hücresel stres yanıtlarını modüle edebileceğini göstermektedir (Xu ve ark., 2019). hsa-miR-16-5p, çeşitli kanser türlerinde tümör baskılayıcı olarak işlev görmektedir. Kolorektal kanser hücrelerinde yapılan bir çalışmada, hsa-miR-16-5p içeren eksozomların, hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu inhibe ettiği, apoptozu ise teşvik ettiği gösterilmiştir (Akdis ve ark., 2011).

2.3 İnterlökinler

2.3.1 İnterlökinlerin Tanımı ve Genel Özellikleri

İnterlökinler (IL), ilk başta yalnızca lökositler tarafından üretildiği düşünülen bir sitokin türüdür, ancak daha sonra birçok farklı vücut hücresi tarafından da üretildiği bulunmuştur. Bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasının yanı sıra çoğalma, olgunlaşma, göç ve adezyonda önemli roller oynarlar. Ayrıca hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, interlökinlerin birincil işlevi, inflamatuvar ve immün yanıtlar sırasında büyüme, farklılaşma ve aktivasyonu düzenlemektir. İnterlökinler, hücre yüzeylerindeki yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak

hücre ve dokularda birçok reaksiyonu tetikleyebilen geniş bir protein grubunu içerir. Hem parakrin hem de otokrin işlevleri vardır. İnterlökinler ayrıca klinik tıp ile ilgili yönleri araştırmak için hayvan çalışmalarında da kullanılmaktadır (Justiz Vaillant ve Qurie, 2025).

2.3.2 İnterlökinlerin Fonksiyonu ve Klinik Önemi

Sitokinler, patojenlere ve diğer antijenlere yanıt olarak üretilen ve inflamatuvar ve immün yanıtları düzenleyen ve aracılık eden proteinlerdir. İnterlökin üretimi kendi kendini sınırlayan bir süreçtir. Çoğu interlökinin kodlandığı haberci RNA kararsızdır ve geçici bir senteze neden olur. Bu moleküller sentezlendikten sonra hızla salgılanırlar. İnterlökinlere hücrel yanıt, sitokin reseptörlerinin inhibitörlerini kodlayan genlerin indüksiyonu ve katılımıyla yukarı ve aşağı düzenleyici mekanizmaları içerir. İnterlökinler yedekli işlevlere sahiptir. Örneğin, IL-4, IL-5 ve IL-13 B hücresi büyüme faktörleridir ve B hücresi farklılaşmasını uyarır. Sitokinler, B hücrelerinde antikor izotiplerinin değişimini, yardımcı T hücrelerinin Th-1 ve Th-2 alt kümelerine farklılaşmasını ve fagositlerde mikrop öldürücü mekanizmaların aktivasyonunu uyarır. İnterlökinler genellikle diğer interlökin sentezini ve etkilerini etkiler. Örneğin, IL-1, IL-2 salınımına yol açan lenfosit aktivasyonunu destekler. Sitokinlere hücrel yanıt, dış sinyaller veya yüksek afiniteli reseptörler tarafından uyarılır ve düzenlenir. Örneğin, B hücrelerinin patojenler tarafından uyarılması, sitokin reseptörlerinin artan ekspresyonuna yol açar. Çoğu sitokin, sitokini salgılayan aynı hücre üzerinde (örneğin, T hücreleri tarafından üretilen IL-2'nin onu üreten aynı T hücreleri üzerinde çalışması) veya yakındaki bir hücre üzerinde etki eder. Ayrıca, sitokinler dolaşıma girebilir ve üretim bölgesinden uzakta etki edebilir, örneğin, IL-1 merkezi sinir sistemi üzerinde çalışan ve ateşe neden olan endojen bir pirojendir. Reseptörleri işgal

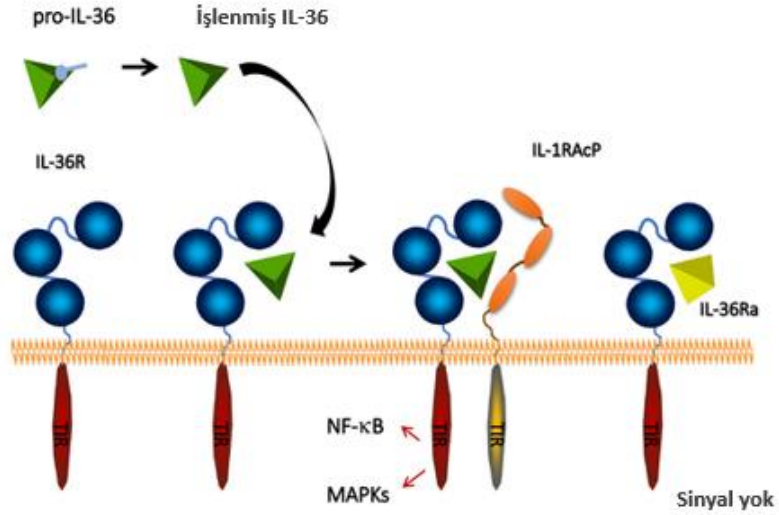
etmek ve biyolojik etkiler ortaya çıkarmak için küçük miktarlarda sitokin yeterlidir (Dinarello ve ark., 2010).

2.3.2.1 İnterlökin 36 Sitokinleri, Ekspresyonu ve Biyokimyası

İnterlökin-1 ailesi üyesi 5 (IL-1F5), IL-1F6, IL-1F8 ve IL-1F9'un işlevleri anlaşıldıkça ve gerçek sitokinler oldukları netleştikçe IL-36 olarak yeniden sınıflandırılmışlardır. IL-36 reseptör (IL-36R) sitokinleri 3 agonisten oluşur: IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ (önceden IL-1F6, IL-1F8 ve IL-1F9 olarak adlandırılırdı) ve bir antagonist olan IL-36 reseptör antagonisti (IL-36Ra), ki bu da önceden IL-1F5 olarak bilinirdi. IL-36 agonistleri, IL-36R (başlangıçta IL-1R ile ilişkili protein 2, diğer adlarıyla IL-1RL2 veya IL-1Rrp2 olarak adlandırılırdı) ve bir yardımcı reseptör alt birimi olan IL-1 reseptör aksesuar proteini, IL-1RAcP'den oluşan aynı heterodimerik reseptör kompleksine bağlanır (Bassoy ve ark., 2018). IL-36 agonistleri reseptörlerine bağlandıklarında, NF- κ B ve mitojenle aktive olan protein kinazlarının aktivasyonuna yol açan ve inflamatuvar yanıtları tetikleyen bir hücre içi sinyal kaskadı oluştururlar. IL-36 ve reseptörü cilt, akciğer ve bağırsak dahil olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edilir ve bu dokularda inflamatuvar yanıtları indükler. IL-36 hem epitel hücreleri hem de spesifik bağışıklık hücreleri üzerinde aktiviteye sahiptir; hücrel aktivasyonu ve sitokin ve kemokin salgılanmasını indükleyerek çeşitli bağışıklık hücrelerinin toplanmasına ve aktivasyonuna yol açar (Dunn ve ark., 2001).

IL-36 sitokin ailesinin üyeleri, ilk olarak IL-1 α ve IL-1 β ile olan homologileri sayesinde sekans veri tabanlarında keşfedilmiştir (Towne ve ark., 2011). İn vitro fonksiyonel karakterizasyonlarının ve kendilerine özgü reseptörleri olan IL-36R'nin tanımlanmasının ardından, IL-36 sitokin alt ailesi 3 agonist sitokin (IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ) ve doğal antagonist IL-36Ra olarak

yeniden sınıflandırılmıştır (van de Veerdonk ve ark., 2012). IL-38 (IL-1F10)'in de IL-36R'nin antagonisti olarak işlev gördüğü belgelenmiştir (Nicklin ve ark., 2002). Bu sitokinler, IL-36R ve IL-1RAcP'den oluşan kendilerine özgü heterodimerik reseptörleriyle etkileşime girmişlerdir.



Şekil 2.5. IL-36R ve ligandları arasındaki etkileşimler.

IL-36 sitokinleri, IL-18 ve IL-33 hariç olmak üzere diğer tüm IL-1 ailesi sitokinlerinin genleri ile aynı gen kümesi içinde, insan kromozomu 2 üzerinde yer almaktadır. IL-36R de insan kromozomu 2 üzerindeki IL-1R ailesi lokusunda bulunur (Taylor ve ark., 2002; Afonina ve ark., 2011). IL-36 ailesi üyelerinin inflamatuvar hastalıkların patogenezindeki rolü ve salgılanma mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. IL-36 sitokinleri, az veya hiç biyoaktiviteye sahip olmayan öncül proteinler olarak sentezlenir ve tam biyolojik potansiyellerini ortaya koymak için sınırlı post-translasyonel işlenmeye ihtiyaç duyarlar (Queen ve ark., 2019).

2.3.2.2 İnterlökin 36 Reseptör Antagonisti (IL-36Ra)

Sitokinlerin IL-36 alt ailesi, IL-1 süper ailesine aittir ve üç pro-inflamatuvar agonisti (IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ) ve bir IL-36 reseptörü (IL-36R) antagonisti olan IL-36Ra'yı içerir. Bu IL-36 sitokinleri, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık yanıtlarını düzenlemek için ortak bir reseptör aracılığıyla işlev görür. IL-36 sitokinleri inaktif öncüler olarak ifade edilir ve tam olarak aktif hale gelmek için proteolitik işlenmeye ihtiyaç duyarlar. IL-36 agonistleri, IL-36R'ye bağlandıklarında, sinyal yollarını aktive ederek inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve üretimini artırır. IL-36 esas olarak vücudun bariyer yapılarını oluşturan epidermal, bronşiyal ve bağırsak epitel hücrelerinde ifade edilir ve bu doku bölgelerinde pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin üretiminin dengesini düzenler. IL-36 sinyalleşmesinin düzensizleşmesi, otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların gelişiminde önemli bir etiyolojik faktördür. Psoriasis gibi inflamatuvar cilt hastalıklarındaki kritik rolünün yanı sıra, giderek artan kanıtlar, anormal IL-36 aktivitelerinin akciğer, böbrekler ve bağırsaklarda da inflamatuvar hastalıkları desteklediğini göstermektedir ve bu da IL-36'nın yaygın inflamatuvar hastalıklar için potansiyel bir terapötik hedef olduğunu vurgulamaktadır (Gresnigt ve van de Veerdonk, 2013).

İnterlökin-1 (IL-1) sitokin ailesi, bir bağışıklık yanıtı sırasında hücreler arası iletişimi düzenleyen bağışıklık aktive edici sitokinlerden oluşur. IL-36, IL-1 süper ailesinin bir alt ailesidir ve IL-36Ra, IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ 'dan oluşur (Gabay ve Towne, 2015). IL-36 sitokinleri, IL-36 reseptörüne (IL-36R) bağlanır ve IL-1 reseptör yardımcı proteinini (IL-1RAcP) bir ko-reseptör olarak kullanır. IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ , IL-36R agonistleri olarak işlev görürken, IL-36Ra, IL-36R sinyalleşmesinin aktivasyonunu inhibe eden bir reseptör antagonisti olarak işlev görür. İnsan IL-36 genleri, 2q13 kromozomundaki IL-1 lokusunda bulunur ve IL-1 sitokin genleriyle %36-46 oranında sekans benzerliği gösterir (Towne ve ark., 2004). IL-36 agonistleri, hücre içi sinyal kaskadı yoluyla nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve mitojenle aktive olan protein

kinazları (MAPK) aktive ederek inflamatuvar yanıtları indükler (Sims ve Smith, 2010). Buna karşılık, IL-36Ra, IL-36R aktivasyonuna bağlanarak ve onu inhibe ederek pro-inflamatuvar sinyalleşmeyi baskılar (Afonina ve ark., 2015; Nishida ve ark., 2016). IL-36 sitokinleri esas olarak cilt, bronşiyal epitel, beyin dokusu, bağırsak ve monositler/makrofajlarda ifade edilir ve doku homeostazı ve inflamasyonda önemli bir rol oynar (Barksby ve ark., 2009; Towne ve Sims, 2012; Valasek ve Repa, 2005; van de Veerdonk ve Netea, 2013;).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı ve Örneklem Seçimi

Şubat 2021 ile Haziran 2024 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'ne başvurmuş, FMF tanısı almış hastalar, demografik ve klinik özellikler açısından retrospektif olarak incelendi ve eksik verileri olan hastalar çalışmadan çıkartıldı. Bu çalışmaya FMF tanısı alan toplam 40 hasta dahil edildi. Tanı, genetik testlerle desteklendi. Kontrol grubu, kliniğimize tekrarlayan ateş, tekrarlayan karın ağrısı, tekrarlayan eklem ağrısı ve göğüs ağrısı gibi FMF semptomları bulunmayan ve FMF tanısı almamış 43 hastadan oluşmaktadır. Demografik, klinik ve genetik veriler retrospektif olarak değerlendirildi. *MEFV* gen mutasyon analizleri, INFEVERS'ta bildirildiği üzere ekzon 2, 3, 5 ve 10'daki en sık 12 mutasyon için real time PCR (gerçek zamanlı PCR) yöntemi ile ticari kitler kullanılarak gerçekleştirildi. Bu çalışmada en az bir *MEFV* mutasyonu olan hastalar değerlendirildi. Bu çalışma, kurumumuzun etik kurulunca incelenmiş ve onaylanmıştır. Çalışma, araştırmacılar tarafından Helsinki Deklerasyonu'na uygun olarak gerçekleştirildi.

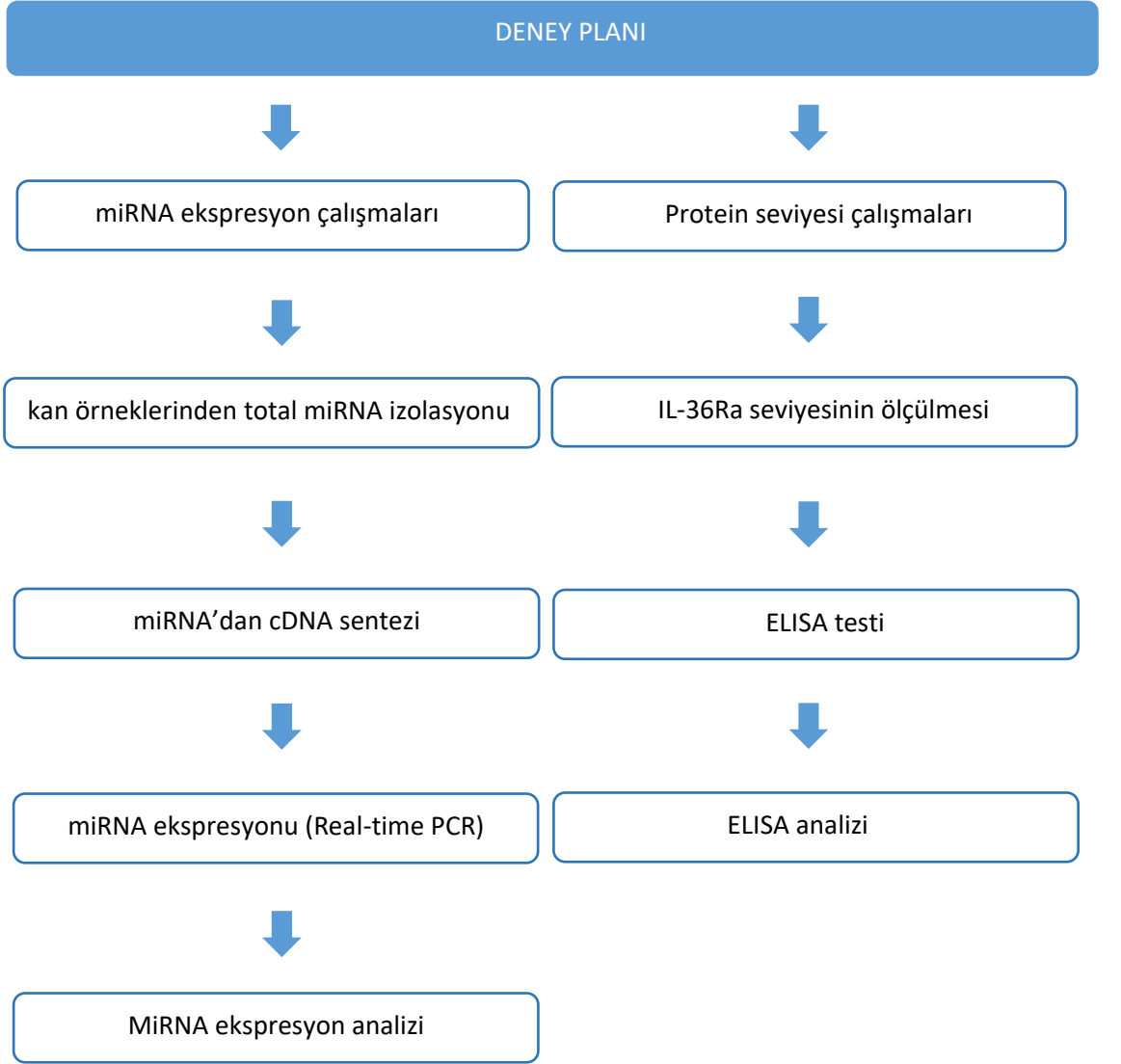
Bu çalışmada kullanılan tüm laboratuvar cihazları aşağıda Tablo 3 ve 4'de verilmiştir. Deney planı şekil 7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihaz listesi.

Kullanılan Cihazlar	Model
Buz Makinası	Fiocchetti Frigoriferi Scientific i, italya
Buzdolabı, derin dondurucu	Beko, Türkiye, Uğur, Türkiye
Otomatik pipetler	Thermo
Mikro hacim spektrofotometre	Maestrogen
PCR cihazı	Techne TC-3000x, Applied Biosystems Veriti 96 Well
RNA elektroforezi	Thermo
+4°C Soğutmalı Makro santrifüj	Sigma
Santrifüj (Ependorf)	Mikro 120 Hettich
Saf su cihazı	Destilasyon 3.1 (Comecta Sa)
-80°C dondurucu	Thermo
Vorteks	Elektromag, Türkiye
qRT PCR	Roche
Bilgisayar	Casper

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihaz listesi.

Kullanılan Kimyasallar	Marka
Etil Alkol	Ethanol Merck 1.00983.2500 for analysis
Kloroform	Merck 102445 Choloform for analysis



Şekil 3.1 Deney planı.

3.2. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu Thermo Fisher PureLink® RNA Extraction Mini Kit kullanılarak gerçekleştirildi:

3.2.1. Örnek Hazırlama

0,5 ml taze antikoagüle edilmiş kan 1,5 ml'lik RNAaz içermeyen tüpe eklendi. 2 dakika oda sıcaklığında 10.000 g'de santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Devamında 0,5 ml RNAaz içermeyen su eklenip karıştırıldı. Tekrar 10.000 g'de 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Ardından 1ml miRNAEkstraktör eklendi ve ters çevrilerek karıştırıldı.

3.2.2 İzolasyon

1. Numunelerin tamamen parçalandığından emin olmak için numuneler miRNA Ekstraktör ile oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübe edildi.
2. 2 ml kloroform eklenmiş, 30 saniye boyunca vortekslendi. 4°C'de 10 dakika boyunca 12.000 x g'de santrifüj yapıldı. Santrifüjden sonra numune 3'e ayrıldı; RNA'yı içeren üstteki renksiz sulu faz ile çalışmaya devam edildi.
3. Süpernatant (yaklaşık 540 µl) temiz bir 1,5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı, 1/3 hacim (genellikle 180 µl) %100 etanol eklendi ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı.
4. 2 dakika 12.000 g'de santrifüj yapıldı, ardından yeni bir 1,5 ml'lik RNAaz içermeyen tüpe aktarıldı.
5. 2/3 hacim %100 etanol eklendi ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı. Çözelti Spin Kolon MR'ye aktarıldı ve 12.000 x g'de 2 dakika santrifüj yapıldı, kalan uzaklaştırıldı.

6. Spin Kolona 0,5 ml RPE Solüsyonu eklendi, 12.000 x g'de 30 saniye santrifüj yapıldı, toplama tüpünde kalan atıldı. (Bu aşama 2 kez tekrarlandı)
7. Kalan etanolün iyice uzaklaştırılması için Spin Kolon 12.000 × g'de 30 saniye boyunca santrifüj yapıldı.
8. Spin Kolon yeni bir 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne konuldu, 30-50 ul RNaz içermeyen Su eklendi. 2 dakika beklendi. 12.000 x g'de 30 saniye boyunca santrifüj yapıldı, ayrıştırılan RNA çözeltisi -80°C'de saklandı.

Elde edilen miRNA'ların konsantrasyonu, Thermo Scientific Nanodrop cihazı ile belirlendi. Cihaza ilk olarak "blank" solüsyonu yüklenerek referans değeri belirlendi. Ardından izole edilen her bir RNA numunesinden 1 ul cihaza yüklendi ve anlık ölçüm değerleri kaydedildi. Her bir değer, 3 tekrar ile kontrolü sağlandı.

3.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi, Applied Biological Materials Inc. miRNA All-In-One cDNA Synthesis Kit kullanılarak gerçekleştirildi.

1. Her bir numuneden total RNA (1 ug/1 ul), 2X miRNA cDNA Synthesis SuperMix (10 ul), Enzyme Mix (2 ul) ve toplam hacim 20 ul olacak şekilde Nuclease-Free H₂O PCR tüpünde birleştirildi. Reaksiyon buz üzerinde bir araya getirildi. Tüp kısa süre santrifüjlendi.
2. Karışım 37°C'de 30 dakika, ardından 50°C'de 15 dakika inkübe edildi. Reaksiyon 85°C'de 5 dakika ısıtılarak hemen durduruldu. Buz üzerinde soğutuldu.

Tablo 3.3. cDNA eldesi için PCR koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü
37°C	30 dakika	1
50°C	15 dakika	1
85°C	5 dakika	1
Reaksiyon buz üzerinde durdurulur		

Yeni sentezlenen tek zincirli miRNA, doğrudan gerçek zamanlı PCR uygulamaları için bir şablon olarak kullanıldı. Kalan cDNA numunesi -20°C'de muhafaza edildi.

3.4. Gerçek Zamanlı PCR(qRT-PCR) ile Ekspresyon Analizi

Gerçek zamanlı PCR'nin temel amacı, bir numunede çok düşük düzeylerde bulunsa dahi, spesifik nükleik asit dizilerinin hassas biçimde tespit edilmesi ve nicel olarak analiz edilmesidir. Bu teknik, hedeflenen nükleik asit sekansını eşzamanlı olarak çoğaltırken, floresan temelli bir sistem aracılığıyla amplifikasyon sürecini gerçek zamanlı olarak izlemeye olanak tanır. Amplifikasyon sırasında floresan sinyalinin belirli bir eşik seviyesine ulaşma süresi, başlangıçtaki hedef sekansın miktarıyla doğrusal bir ilişki gösterir ve bu sayede hedef molekülün kantitatif olarak belirlenmesini mümkün kılar (Valasek ve Repa, 2005).

BlaTaq™ 2X qPCR MasterMix kiti kullanılarak hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p primerleri ile gerçek zamanlı PCR gerçekleştirildi. Protokole göre, her bir örnekten cDNA (1 ng), BlaTaq™ 2X qPCR MM (10 ul), Forward Primer (0.5 ul), Reverse Primer (0.5 ul) ve toplam hacim 20 ul olacak şekilde Nuclease-Free H₂O PCR tüpünde birleştirildi. Reaksiyon buz üzerinde bir araya getirildi. Tüp kısa süre santrifüjlendi. Reaksiyon, Bio-rad CFX96 C1000 Touch ekipmanında protokole göre 1 döngü 95 °C'de 3 dakika, 40 döngü 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 1 dakika olacak

şekilde başlatıldı. Gerçek zamanlı PCR sonuçları Livak metoduna göre değerlendirildi (Livak ve Schmittgen, 2001)

Tablo 3.4. Gerçek zamanlı PCR reaksiyon koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 °C	3 dakika	1
95 °C	15 saniye	40
60 °C	1 dk	

Tablo 3.5. Primerlerin nükleotit dizileri.

miRNA	Forward (5' -3')	Reverse (5' -3')
hsa-miR-335-5p	5'-AAGAGCAATAACGAAAAATG-3'	5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3'
hsa-miR-26b-5p	5'-CCGGGACCCAGTTCAAGTAA-3'	5'-CCCCGAGCCAAGTAATGGAG-3'
hsa-miR-16-5p	5'-TGGGGTAGCAGCACGTA-3'	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTC-3'

3.5. IL36RN Geninin Protein Seviyesinde Gösterilmesi

FMF hastaları ve kontrol grubunda SunRed Biotechnology Company Elisa kit Human IL1F5 ELİSA kiti ile protein seviyesi belirlendi:

1. Kit buzdolabından çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.
2. Standart dilüsyonları hazırlandı: 1600 ng/L'lik standart çözelti, adım adım 800, 400, 200, 100 ve 50 ng/L olacak şekilde seyreltildi.
3. Mikrotiter plaka üzerinde örnekler, standartlar ve boş kuyular ayrıldı. Her bir numune için ikili tekrar yapıldı.
4. Örnek kuyularına 40 µl örnek, 10 µl biotin ile işaretli IL1F5 antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. Standart kuyularına 50 µl standart çözeltisi ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. Boş kuyulara sadece kromojen ve durdurucu çözelti eklendi.
5. Plaka, 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

6. İnkübasyon sonrası plakadaki sıvı boşaltıldı ve yıkama solüsyonu 30 kez seyreltilerek hazırlandı. Plaka beş kez yıkandı.
7. Her kuyuya sırasıyla 50 µl kromojen çözeltisi A ve ardından 50 µl kromojen çözeltisi B eklendi. Plaka, 37°C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi.
8. Her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve renk değişimi mavi-sarıya döndü.
9. Plaka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda, durdurma solüsyonundan sonraki 15 dakika içinde ölçüm yapıldı.
10. Standartların optik yoğunluk değerlerine göre bir standart eğrisi oluşturuldu ve numunelerin konsantrasyonları bu eğri üzerinden hesaplandı.

Çalışmada, IL36RA düzeylerini belirlemek amacıyla çift antikor-sandviç esasına dayanan ELISA yöntemi uygulandı. Öncelikle kit oda sıcaklığına adapte edildi ve standart dilüsyonları hazırlandı. Mikrotiter plakasına standartlar, örnekler ve uygun reaktifler eklendikten sonra 37°C’de inkübasyon yapıldı. Plaka yıkandıktan sonra kromojen çözeltiler eklendi ve renk gelişiminin ardından reaksiyon durduruldu. Son olarak, optik yoğunluk değerleri ölçülerek örneklerdeki IL36RA konsantrasyonları standart eğri yardımıyla hesaplandı.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Gen ekspresyonu seviyeleri, CFX Manager™ Software kullanılarak ölçüldü. Gen ifadesi eşik döngüsüne (Ct) göre tanımlandı ve U6-2, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ olarak hesaplanan RNA ifadesini normalleştirmek için dahili bir referans görevi gören bir referans gen olarak kullanıldı. Katlama değişimi (fold-change), her test örneğindeki normalize edilmiş miRNA ekspresyonunun kontrol örneğindeki normalize edilmiş miRNA ekspresyonuna bölünmesiyle elde edildi. Hasta ve kontrol grupları seçildi ve miRNA'ların katlama değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$), $\Delta\Delta Ct$ yöntemi ile hesaplandı ($\Delta Ct = (Ct \text{ miRNA} - Ct \text{ U6-2})$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{hasta}) - \Delta Ct$

(kontrol)). Katlama değişimi değerleri > 1 artmış (up-regüle), katlama değişimi değerleri < 1 ise azalmış (down-regüle) olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler, Windows için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), Sürüm 26.0 (IBM SPSS Inc. Chicago, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. $p < 0.05$ değeri istatikselsel olarak anlamlı olarak kabul edildi. Her bir hasta grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması için student's t-testi, sürekli ve kategorik değişkenleri analiz etmek için Levene'nin varyans homojenliği testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Hastalardan alınan kan örnekleri (2 ml) EDTA'lı tüplerde toplandı. Kan örnekleri Ocak 2021-Haziran 2024 arasında FMF ön tanısı ile kliniğimize başvuran ve rutin mutasyon analizi yapılan hastalardan alındı. Hasta grubunda 23 kadın ve 17 erkek vardı. Kontrol grubunda 24 kadın (%53,33) ve 21 erkek (%46,67) vardı. Kontrol grubunda ortalama yaş $31,38 \pm 13,94$ idi. Tipik klinik bulgular ateş, karın ağrısı, artrit/artralji ve karın ağrısıydı.

Tablo 4.1. FMF hastalarının demografik ve karakteristik özellikleri.

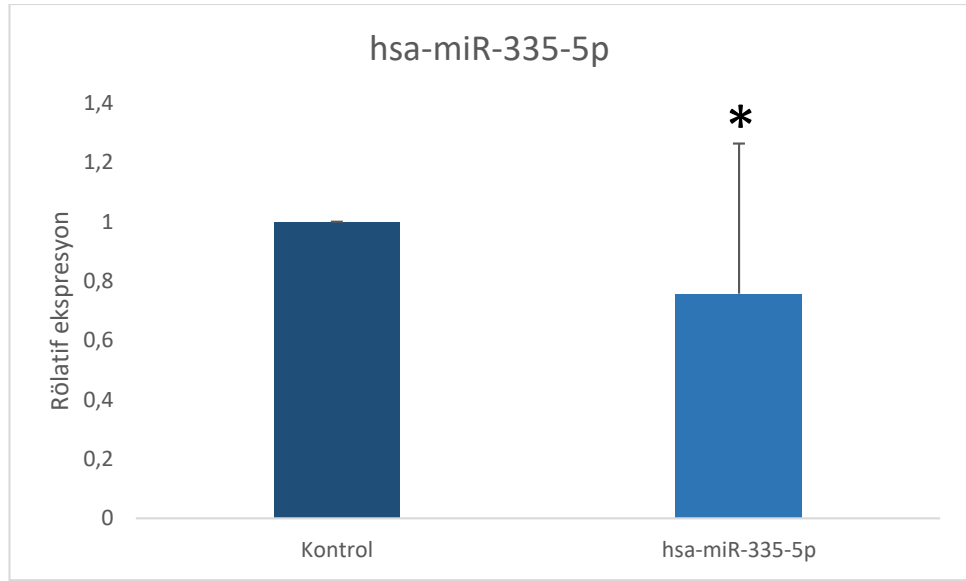
	Erkek, <i>n</i> (%)	Kadın, <i>n</i> (%)
Cinsiyet	17 (42,5%)	23 (57,5%)
Ortalama Yaş	24,25 \pm 18,64	
Semptomlar, <i>n</i> (%)		
Karın ağrısı	7 (17,95%)	
Ateş	4 (10,25%)	
Artrit/artralji	2 (5,13%)	
Çoklu semptomlar	26 (66,67%)	

FMF mutasyon analizi sonuçlarına göre genotipleri belirlenen hastalar arasından M694V ve R761H homozigot varyant taşıyan 4 örnek, bir heterozigot varyant taşıyan 25 örnek ve bileşik heterozigot varyant taşıyan 11 örnek seçildi (Tablo 4.1). FMF mutasyonu saptanmayan 45 sağlıklı birey kontrol grubu olarak seçildi. Çalışmaya alınan sağlıklı kontroller serebrovasküler hastalık, kardiyovasküler hastalık, metabolik hastalık, gebelik veya emzirme döneminde olmayan bireylerden oluşuyordu. Çalışma protokolü Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Onay No 2024/99). Çalışmamız Helsinki Deklarasyonu ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi.

Tablo 4.2. Hasta grubunda saptanan *MEFV* geni varyantlarının yüzdeleri.

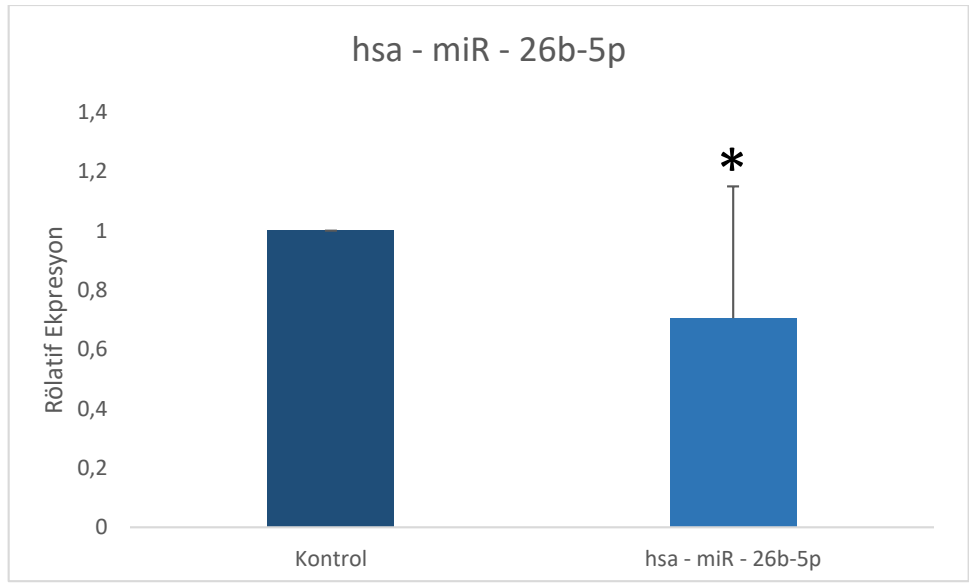
Mutasyon	Genotip	n (%)
Homozigot genotip	R761H/R761H	2 (5%)
	M694V/M694V	2 (5%)
Heterozigot genotip	M694V	10 (25%)
	V726A	6 (15%)
	R761H	2 (5%)
	E148Q	2 (5%)
	M680I/C	2 (5%)
	L110P	2 (5%)
	R202Q	1 (2,5%)
Bileşik genotip	M694V, V726A	3 (7,5%)
	E148Q, P369S	2 (5%)
	R761H, M694V	2 (5%)
	E148Q, V726A	1 (2,5%)
	V726A, M680I/C	1 (2,5%)
	E148Q, M680I/C	1 (2,5%)
	M694V, M680I/A	1 (2,5%)

FMF hastalarında ve sağlıklı kontrollerde qRT-PCR ile ölçülen ve U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-335-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması sonucu FMF hastalarında hsa-miR-335-5p ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi. Student's t test istatistiğinin değeri $p < 0.005$ ile anlamlıdır.



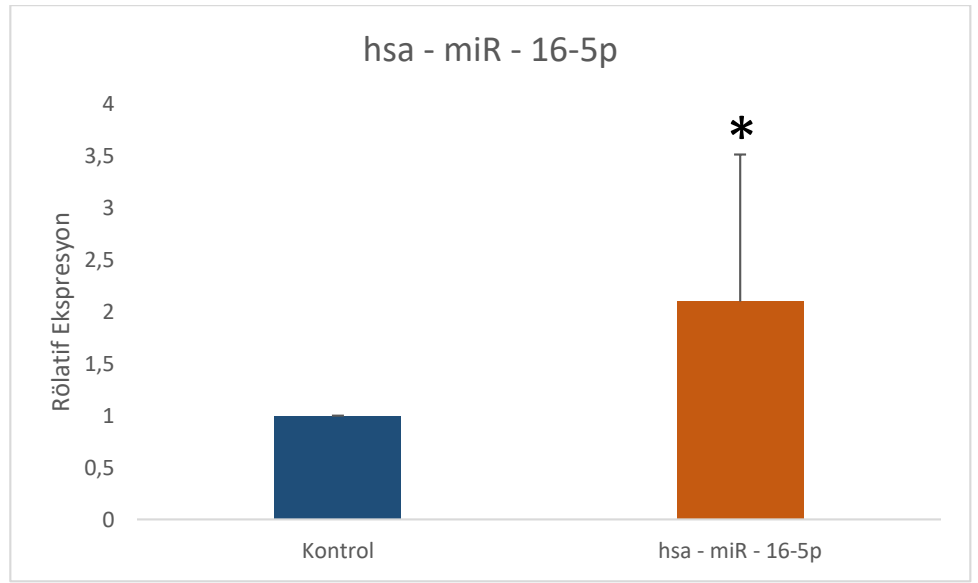
Şekil 4.1. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-335-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.

FMF hastalarında ve sağlıklı kontrollerde qRT-PCR ile ölçülen ve U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-26b-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması sonucu FMF hastalarında hsa-miR-26b-5p ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. Student's t test istatistiğinin değeri $p < 0.005$ ile anlamlıdır.



Şekil 4.2. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR- hsa-miR-26b-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.

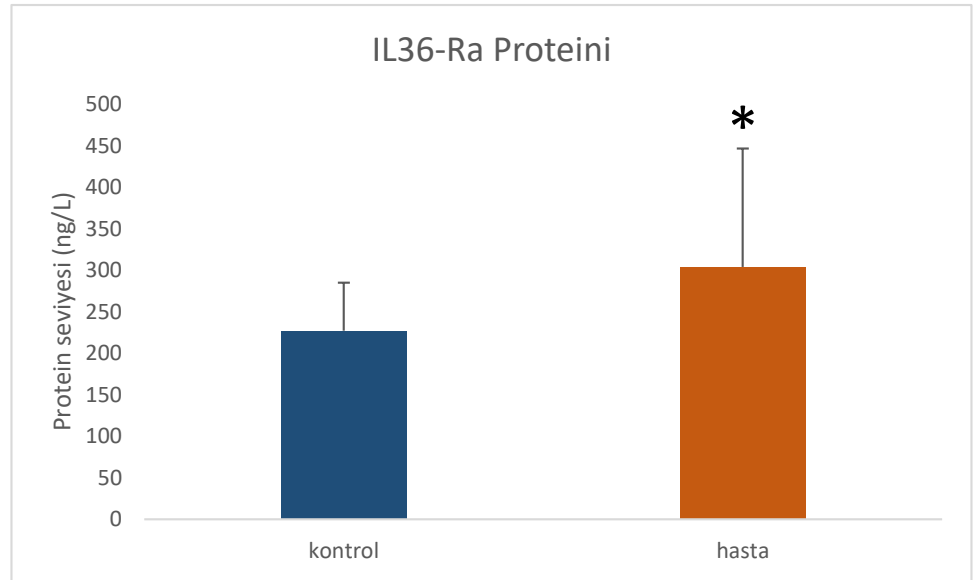
FMF hastalarında ve sağlıklı kontrollerde qRT-PCR ile ölçülen ve U6-2 seviyelerine göre normalize edilen miR-16-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması sonucu FMF hastalarında miR-16-5p ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Student's t test istatistiğinin değeri $p < 0.005$ ile anlamlıdır.



Şekil 4.3. U6-2 seviyelerine göre normalize edilen hsa-miR-16-5p miRNA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çalışma bulguları, FMF hastalarında hsa-miR-335-5p ve hsa-miR-26b-5p miRNA ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede azaldığını ve hsa-miR-16-5p miRNA ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede arttığını göstermektedir.

FMF hastalarında ve sağlıklı kontrollerde ELISA ile ölçülen ve IL36-Ra proteini düzeylerinin karşılaştırılması sınıcunda, FMF hastalarında IL36-Ra proteini seviyesinin 303,73 ng/L ortalama değer ile, sağlıklı kontrol grubunun 227,03 ng/L ortalama değerine göre arttığı saptanmıştır.



Şekil 4.4. IL36-Ra proteini düzeylerinin karşılaştırılması.

Çalışma bulguları, FMF hastalarında hsa-miR-335-5p ve hsa-miR-26b-5p miRNA ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede azaldığını ve hsa-miR-16-5p miRNA ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede arttığını, IL-36Ra protein seviyesinin anlamlı derecede arttığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Literatürde çeşitli miRNA ekspresyonları ile FMF hastalığı arasında ilişkiler gösterilmiş olmasına rağmen hsa-miR-335-5p ilişkisini gösteren bir çalışma henüz mevcut değildi. Çocukluk çağındaki FMF hastalarında hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p ekspresyon seviyesini gösteren bir çalışma mevcuttu. Çalışmamızda hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p ekspresyonu ile FMF hastalığı arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmamızda hasta olmayan kontrol grubu ile FMF teşhisi almış hasta grubu karşılaştırılmıştır. Çalışılan 3 miRNA tipinden hsa-miR-335-5p ve hsa-miR-26b-5p miRNA ekspresyon seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ve hsa-miR-16-5p ekspresyon seviyesinin anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur.

Çalışmamızda, FMF hastalarında miR-335-5p düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. miR-335-5p, çeşitli immün hücrelerde eksprese edilen ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde rol oynayan bir miRNA olup, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederek inflamasyonu baskılayabilir (Zhu ve ark., 2014b). Bu nedenle, FMF hastalarında saptanan miR-335-5p düzeylerindeki azalma, inflamatuvar yanıtların artmasına ve hastalığın şiddetlenmesine katkıda bulunabilir. Osteoartritli hastalardan elde edilen kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde yapılan bir çalışmada, osteojenik farklılaşma sırasında hsa-miR-335-5p'nin ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalma, mikroRNA'nın kemik homeostazı ve osteoartrit patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Torneró-Esteban ve ark., 2015). Akut myeloid lösemi hücrelerinde yapılan bir araştırmada, hsa-miR-335-5p'nin NFS1 genini hedef alarak GPX4

ekspresyonunu azalttığı ve bu yolla ferroptozis yolunu aktive ettiği bulunmuştur. Resveratrol tedavisinin, hsa-miR-335-5p ekspresyonunu artırarak AML hücrelerinde ferroptozisi teşvik ettiği rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2023).

Çalışmamızda, FMF hastalarında hsa-miR-26b-5p düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Bu bulgu, literatürdeki mevcut çalışmayla uyumludur ve miR-26b-5p'nin FMF patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Çocukluk çağındaki FMF hastalarının dolaşımdaki hücre dışı miRNA profillerinin incelendiği bir çalışmada apoptozla ilişkili çeşitli miRNA'ların ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve miR-26b-5p'nin çocuk FMF hastalarında anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur. Bu azalma, FMF'nin patogenezinde apoptozla ilişkili mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir. miR-26b-5p'nin inflamatuvar yanıtların düzenlenmesindeki rolü göz önüne alındığında, bu mikroRNA'nın ekspresyonundaki azalma, FMF'nin semptomlarının şiddetlenmesine katkıda bulunabilir (Karpuzoglu ve ark., 2021).

Çalışmamızda, FMF hastalarında hsa-miR-16-5p düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu bulgu, literatürdeki mevcut verilerle kısmen örtüşmekle birlikte, özellikle çocuk FMF hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada hsa-miR-16-5p düzeylerinde azalma bildirilmiştir (Liu ve ark., 2023). Söz konusu çalışmada, hsa-miR-16-5p başta olmak üzere bazı apoptoz ilişkili mikroRNA'ların serum düzeylerinin anlamlı şekilde baskılandığı ve bu durumun hastalığın erken dönem patofizyolojisiyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Buna karşılık, literatürdeki farklı çalışmalarda hsa-miR-16-5p'nin inflamasyon ve apoptoz süreçlerinde düzenleyici role sahip olduğu açıkça ortaya konmuştur. Özellikle hsa-miR-16-5p, caspaz-3 ve caspaz-9 gibi apoptotik yolaktaki temel moleküllerin ekspresyonunu arttırarak hücrel apoptozu tetikleyebilmektedir (Zhao ve Wu, 2019; Zheng ve ark., 2017). Bu durum, FMF gibi otoinflamatuvar hastalıklarda, inflamatuvar hücrelerin yaşam sürelerini sınırlamak amacıyla aktive edilen

potansiyel bir negatif geri bildirim mekanizmasını düşündürmektedir. miR-16'nın IKK β 'yi hedef alarak NF- κ B sinyal yolunu inhibe ettiği ve bu yolla IL-13 ile indüklenen inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (Gao ve Yu, 2018). Bu inhibisyon, IL-6, IL-1 β ve GM-CSF gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde azalmaya yol açmıştır. Başka bir çalışma, miR-16'nın NF- κ B p65 alt biriminin nükleer translokasyonunu inhibe ettiği ve bu yolla IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı gösterilmiştir (Khalife ve ark., 2019). Bu bulgular, miR-16'nın inflamasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu bağlamda, FMF hastalarında gözlemlenen hsa-miR-16-5p artışı, inflamasyonun düzenlenmesine yönelik kompensatuar bir mekanizma olarak değerlendirilebilir. Bu durum, özellikle erişkin FMF hastalarında hastalık süreci ilerledikçe organizmanın inflamasyonu sınırlandırmak için geliştirdiği moleküler adaptasyonları yansıtıyor olabilir. Çalışmamızda saptanan hsa-miR-16-5p artışı, FMF hastalığında inflamatuvar yükü azaltmaya yönelik bir düzenleyici yanıtın parçası olabilir. Her ne kadar çocuk hasta grubunda yapılan çalışmada bu mikroRNA'nın baskılandığı bildirilmiştir. Buna karşın yaş, hastalık evresi ve tedaviye yanıt gibi faktörlerin bu farklılıkları açıklamada önemli rol oynayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, hsa-miR-16-5p'nin FMF patogenezindeki özgül rolünü netleştirmek amacıyla yaş grubu ve klinik değişkenlere göre detaylandırılmış izoform düzeyinde ileri araştırmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

miRNA'ların genetik hastalıklarla ilişkisi, son yıllarda yoğun araştırılan bir konudur. Çeşitli araştırmalar, miRNA'ların FMF'nin patogenezinde düzenleyici roller oynayabileceğini göstermektedir. *MEFV* geninin mutasyonlarının, miRNA ekspresyon profillerinde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir. Bu değişiklikler, inflamatuvar yanıtların kontrolünde önemli rol oynayan miRNA'ların ekspresyonunda düzensizliklere yol açabilir (Denzler ve ark., 2014). Ayrıca, FMF hastalarında miRNA'ların hedef alındığı genlerin ve

ilgili sinyal yollarının incelenmesi, hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar, FMF'nin inflamasyon ve immün yanıtlarla ilişkili karmaşık bir hastalık olduğunu ve miRNA'ların bu süreçlerde düzenleyici bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir (Sönmez ve ark., 2016). FMF hastalarında yapılan çalışmalar, belirli miRNA'ların ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişiklikler olduğunu göstermiştir. Örneğin, miR-107 ve miR-148b-3p'nin downregüle olduğu, miR-21-5p ve miR-144-3p'nin ise upregüle olduğu bulunmuştur. Bu miRNA'lar, inflamasyon ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan genleri hedef alarak hastalığın patogenezinin katkıda bulunabilirler (Amarilyo ve ark., 2018; Chaaban ve ark., 2024). miRNA'ların stabil yapıları ve hastalığa özgü ekspresyon profilleri, onları biyobelirteç olarak kullanmak için uygun adaylar haline getirmektedir. FMF hastalarında belirli miRNA'ların ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler, hastalığın tanısında ve alt tiplerinin belirlenmesinde yardımcı olabilir. Özellikle, miR-197-3p'nin IL1R1 genini hedef alarak inflamasyonu modüle ettiği ve bu özelliğiyle FMF tanısında kullanılabilirliği önerilmektedir (Bildirici, 2023). miRNA'ların FMF'deki rolleri üzerine yapılan araştırmalar, hastalığın daha iyi anlaşılmasına ve yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, miRNA'ları hedef alan tedavi stratejileri, FMF'nin yönetiminde yeni yaklaşımlar sunabilir.

Literatürde şu ana kadar FMF hastalarında IL-36Ra düzeylerini doğrudan ölçen spesifik bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, IL-36Ra'nın inflamasyonu düzenleyici rolü göz önüne alındığında, FMF'deki kronik inflamatuvar durumun IL-36Ra ekspresyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Özellikle, IL-36Ra'nın IL-36 aracılı inflamasyonu inhibe etme kapasitesi, FMF'deki inflamatuvar yanıtların şiddeti ve süresi üzerinde etkili olabilir. Çalışmamızda, FMF hastalarında IL-36Ra düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu bulgu, IL-36Ra'nın inflamatuvar yanıtı dengelemeye yönelik kompensatuvar bir mekanizma olarak rol

oynayabileceğini düşündürmektedir. FMF, IL-1 ailesine ait sitokinlerin düzensiz üretimiyle karakterize edilen otoinflamatuvar bir hastalıktır. Bu sitokinler arasında IL-36 ailesi (IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ) proinflamatuvar etkiler gösterirken, IL-36Ra bu etkileri antagonize eder. IL-36Ra, IL-36 reseptörüne bağlanarak IL-1RAcP'nin (IL-1 reseptör aksesuar proteini) bağlanmasını engeller ve böylece sinyal iletimini durdurur. IL-36Ra, IL-1 süper ailesine ait bir sitokin olup, IL-36R'ye bağlanarak IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ gibi proinflamatuvar agonistlerin etkisini inhibe eder. Bu antagonistik etki, inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. FMF, *MEFV* genindeki mutasyonlar sonucu pyrin inflammasomunun aşırı aktivasyonu ile karakterize edilen otoinflamatuvar bir hastalıktır. Bu durum, IL-1 β , IL-6, IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışına yol açar (Malcova ve ark., 2021). IL-36Ra'nın artmış düzeyleri, bu aşırı inflamatuvar yanıtı dengelemeye yönelik bir kompensatuvar mekanizma olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, IL-36Ra'nın FMF patogenezindeki potansiyel rolünü ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesindeki önemini vurgulamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar, IL-36Ra'nın FMF'deki spesifik etkilerini ve terapötik potansiyelini daha ayrıntılı olarak ortaya koyabilir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, otoinflamatuvar hastalıklar grubunun prototipi olarak kabul edilen Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) hastalığının moleküler patogenezinin ışık tutabilecek mikroRNA (miRNA) profilleri ve bu hastalıkta inflamasyon düzenleyicisi olarak rol alabilecek IL-36Ra düzeyleri detaylı şekilde incelenmiştir. FMF hastalarında, hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p ekspresyon seviyeleri ile IL-36Ra düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması sonucunda, hastalığın inflamatuvar dinamiklerine dair önemli bulgular elde edilmiştir.

Çalışmamızda ilk kez FMF hastalarında hsa-miR-335-5p ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir. miR-335-5p'nin immün hücrelerde ifade edilen, proinflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak inflamasyonu sınırlayan bir mikroRNA olduğu göz önüne alındığında, bu molekülün düzeyindeki azalma, FMF hastalarında inflamatuvar yanıtların artışına katkıda bulunabilir. Aynı zamanda osteojenik farklılaşma ve ferroptozis gibi hücresel süreçlerde de rol oynayan miR-335-5p'nin FMF'deki azalmış düzeyi, hastalığın kronik inflamatuvar doğasını yansıtan epigenetik bir düzensizlik olarak yorumlanabilir. Bu bulgu, hem hastalık patofizyolojisinin anlaşılmasında hem de potansiyel tanısal biyobelirteçlerin geliştirilmesinde önemli bir adımdır.

Benzer şekilde, hsa-miR-26b-5p düzeyinin de FMF hastalarında anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Literatürde çocuk FMF hastalarında da benzer yönde rapor edilen bu azalma, özellikle apoptoz ve inflamasyon ilişkili moleküler yolların düzenlenmesinde rol oynayan bu miRNA'nın FMF patogeneğinde merkezi bir rol oynayabileceğini göstermektedir. miR-26b-5p'nin inflamatuvar yanıtları baskılayıcı etkileri ve hücrel stres yanıtlarında dengeleyici rolü göz önüne alındığında, bu molekülün düzeylerindeki azalma, hastalığın semptomatolojisinin şiddetlenmesine neden olabilir.

Öte yandan, hsa-miR-16-5p düzeylerinde FMF hastalarında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu bulgu, çocuk hastalar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda bildirilen baskılanmanın aksine, özellikle erişkin hastalarda inflamasyonun kontrol altına alınmasına yönelik gelişen kompensatuvar adaptif mekanizmaları yansıtabileceği düşünülmektedir. miR-16-5p'nin apoptozu tetikleyici etkileri ve inflamatuvar sinyal yollarını inhibe edici özellikleri, bu molekülün inflamasyonun düzenlenmesinde negatif geri bildirim mekanizması olarak görev yapabileceğini düşündürmektedir. Özellikle NF- κ B yolunun baskılanması yoluyla IL-6, IL-1 β , TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin azaltılması, FMF'deki miR-16-5p artışının biyolojik bir yanıt olarak geliştiğini destekler niteliktedir.

Çalışmamızda ayrıca IL-36Ra düzeylerinin FMF hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Literatürde FMF hastalarında IL-36Ra düzeylerini doğrudan ölçen spesifik çalışmalar bulunmamakla birlikte, elde ettiğimiz bu sonuç, IL-1 süper ailesine ait antagonist bir sitokin olan IL-36Ra'nın inflamasyonu sınırlandırmaya yönelik fizyolojik bir yanıt olarak devreye girdiğini göstermektedir. IL-36 α , β ve γ 'nın proinflamatuvar etkilerini bloke eden IL-36Ra, FMF'deki kronik inflamatuvar durumu dengelemeye çalışan bir moleküler tampon mekanizma olarak değerlendirilebilir. Bu artış, pyrin inflammasomunun aşırı aktivasyonu ile

karakterize edilen FMF patogenezinde, inflamatuvar dengenin sağlanmasına yönelik endojen bir savunma mekanizmasını temsil edebilir.

Bu bulguların birlikte değerlendirilmesi, FMF'nin sadece *MEFV* gen mutasyonlarıyla açıklanamayacak kadar karmaşık bir moleküler temele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. miRNA'lar gibi epigenetik düzenleyicilerin, gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde kontrol ederek inflamatuvar süreçleri önemli ölçüde etkileyebileceği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada incelenen miRNA'lar ve IL-36Ra'nın FMF patogenezinde karşılıklı ilişkili olabilecek mekanizmalarla hareket ettikleri ve bu bağlamda hem tanısal hem de terapötik potansiyel taşıdıkları öne sürülmektedir.

Çalışmamızın sınırlılıkları arasında hasta sayısının sınırlı oluşu ve kohortun yaş grubu ile hastalık evresine göre detaylandırılmamış olması sayılabilir. Ayrıca, miRNA düzeylerinin yalnızca periferik kan örneklerinden değerlendirilmiş olması, dokuya özgü ekspresyon farklılıklarının göz ardı edilmesine neden olabilir. Bu bağlamda, gelecekte yapılacak daha geniş örneklemli ve izoform düzeyinde yapılacak fonksiyonel çalışmalar, FMF'de miRNA'ların ve IL-36Ra'nın patofizyolojik rollerini daha ayrıntılı şekilde ortaya koyacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışma FMF hastalarında hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p ve hsa-miR-16-5p gibi miRNA'ların ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişiklikler olduğunu ve IL-36Ra düzeyinin hastalıkla ilişkili inflamatuvar yükü dengelemeye yönelik arttığını göstermiştir. Bu moleküller, FMF'nin tanısında, alt tiplerinin belirlenmesinde ve tedaviye yanıtın izlenmesinde potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda, miRNA'lara veya IL-36Ra'ya yönelik geliştirilecek hedefe yönelik tedavi stratejileri, FMF yönetiminde daha etkili ve bireyselleştirilmiş yaklaşımların önünü açabilir.

KAYNAKLAR

Afonina I. S., Müller C., Martin S. J., Beyaert R. (2015). Proteolytic Processing of Interleukin-1 Family Cytokines: Variations on a Common Theme. *Immunity* 42 991–1004. 10.1016/j.immuni.2015.06.003

Afonina, I. S., Tynan, G. A., Logue, S. E., Cullen, S. P., Bots, M., Lüthi, A. U., ... ve Martin, S. J. (2011). Granzyme B-dependent proteolysis acts as a switch to enhance the proinflammatory activity of IL-1 α . *Molecular cell*, 44(2), 265-278.

Akdis, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker, S., Meyer, N., O'Mahony, L., Palomares, O., Rhyner, C., Ouaked, N., Schaffartzik, A., Van De Veen, W., Zeller, S., Zimmermann, M., ve Akdis, C. A. (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(3), 701–21.e270.

Akyol Onder, E.N., Ozcan, K.E., Sahin, F.I. *et al.* Comparison of diagnostic criteria for children with familial Mediterranean fever. *Eur J Pediatr* **181**, 1661–1667 (2022).

Aldea, A., Campistol, J. M., Arostegui, J. I., Rius, J., Maso, M., Vives, J., ve Yagüe, J. (2004). A severe autosomal-dominant periodic inflammatory disorder with renal AA amyloidosis and colchicine resistance associated to the *MEFV* H478Y variant in a Spanish kindred: an unusual familial Mediterranean fever phenotype or another *MEFV*-associated periodic inflammatory disorder?. *American journal of medical genetics Part A*, 124(1), 67-73.

Amarilyo G, Pillar N, Ben-Zvi I, Weissglas-Volkov D, Zalcman J, Harel L, Livneh A, Shomron N. Analysis of microRNAs in familial Mediterranean fever. *PLoS One*. 2018 May 22;13(5):e0197829.

Barksby H. E., Nile C. J., Jaedicke K. M., Taylor J. J., Preshaw P. M. (2009). Differential expression of immunoregulatory genes in monocytes in response to *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Clin. Exp. Immunol.* 156 479–487. 10.1111/j.1365-2249.2009.03920.x

Bartel D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281–297.

Bashardoust B. (2015). Familial Mediterranean fever; diagnosis, treatment, and complications. *Journal of nephro pharmacology*, 4(1), 5–8.

- Bassoy, E. Y., Towne, J. E., ve Gabay, C. (2018). Regulation and function of interleukin-36 cytokines. *Immunological reviews*, 281(1), 169-178.
- Ben-Chetrit, E., ve Levy, M. (1998). Colchicine: 1998 update. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 28(1), 48-59.
- Ben-Chetrit, E., ve Levy, M. (1998). Familial mediterranean fever. *The Lancet*, 351(9103), 659-664
- Ben-Zvi, I., ve Livneh, A. (2011). Chronic inflammation in FMF: Markers, risk factors, outcomes and therapy. *Nature Reviews Rheumatology*, 7(2), 105-112.
- Bildirici A. E. (2023). Familial Mediterranean fever and microRNAs. *International journal of immunogenetics*, 50(6), 273–280.
- Booth DR, Bennetts B, Christodoulou J, Steward G. FMF in Australia-an under-diagnosed disease [abstract]. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20(Suppl 26):S-90.
- Booth, D. R., Gillmore, J. D., Lachmann, H. J., Booth, S. E., Bybee, A., Soytürk, M., ... ve Hawkins, P. N. (2000). The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever. *Qjm*, 93(4), 217-221.
- Bushati, N., ve Cohen, S. M. (2007). microRNA functions. *Annual review of cell and developmental biology*, 23, 175–205.
- Cao, Z., Liu, J., Zhao, Z., ve Wang, Q. (2021). miR-16-5p Regulates PTPN4 and Affects Cardiomyocyte Apoptosis and Autophagy Induced by Hypoxia/Reoxygenation. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2021, 5599031.
- Centola, M., Wood, G., Frucht, D. M., Galon, J., Aringer, M., Farrell, C., ... ve O'Shea, J. J. (2000). The gene for familial Mediterranean fever, *MEFV*, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 95(10), 3223-3231.
- Chaaban, A., Salman, Z., Karam, L., Kobeissy, P. H., ve Ibrahim, J. N. (2024). Updates on the role of epigenetics in familial mediterranean fever (FMF). *Orphanet journal of rare diseases*, 19(1), 90.
- Chae, J. J., Komarow, H. D., Cheng, J., Wood, G., Raben, N., Liu, P. P., ve Kastner, D. L. (2003). Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Molecular Cell*, 11(3), 591-604.
- Chae, J. J., Wood, G., Masters, S. L., Richard, K., Park, G., Smith, B. J., ve Kastner, D. L. (2006). The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 β production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(26), 9982-9987.
- Chaudhary, S.; Grover, A.; Sharma, P.C. MicroRNAs: Potential Targets for Developing StressTolerant Crops. *Life* 2021, 11, 289

- Chen, C. Y., Chang, J. T., Ho, Y. F., ve Shyu, A. B. (2016). MiR-26 down-regulates TNF- α /NF- κ B signalling and IL-6 expression by silencing HMGA1 and MALT1. *Nucleic acids research*, 44(8), 3772–3787.
- Demirkaya, E., Saglam, C., Turker, T., Koné-Paut, I., Woo, P., Doglio, M., ... ve Özen, S. (2016). Performance of different diagnostic criteria for familial Mediterranean fever in children with periodic fevers: results from a multicenter international registry. *The Journal of rheumatology*, 43(1), 154-160.
- Denzler, R., Agarwal, V., Stefano, J., Bartel, D. P., ve Stoffel, M. (2014). Assessing the ceRNA hypothesis with quantitative measurements of miRNA and target abundance. *Molecular cell*, 54(5), 766–776.
- Dinareello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review of Immunology*, 27, 519-550.
- Dinareello, C., Arend, W., Sims, J., Smith, D., Blumberg, H., O'Neill, L., ... ve Gabel, C. (2010). IL-1 family nomenclature. *Nature immunology*, 11(11), 973-973
- Dunn, E., Sims, J. E., Nicklin, M. J., ve O'Neill, L. A. (2001). Annotating genes with potential roles in the immune system: six new members of the IL-1 family. *Trends in immunology*, 22(10), 533-536.
- Eisenstein, E. M., Berkun, Y., ve Ben-Chetrit, E. (2013). Familial Mediterranean fever: a critical digest of the 2012-2013 literature. *Clin Exp Rheumatol*, 31(3 Suppl 77), 103-7.
- French FMF Consortium (1997). A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nature genetics*, 17(1), 25–31.
- Friedman, R. C., Farh, K. K. H., Burge, C. B., ve Bartel, D. P. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome research*, 19(1), 92-105.
- Gabay C., Towne J. E. (2015). Regulation and function of interleukin-36 cytokines in homeostasis and pathological conditions. *J. Leukoc. Biol.* 97 645–652. 10.1189/jlb.3RI1014-495R
- Gao, W., Yang, J., Liu, W., Wang, Y., ve Shao, F. (2016). Site-specific phosphorylation and microtubule dynamics control Pyrin inflammasome activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(33), E4857-E4866.
- Gao, Y., ve Yu, Z. (2018). MicroRNA-16 inhibits interleukin-13-induced inflammatory cytokine secretion and mucus production in nasal epithelial cells by suppressing the I κ B kinase β /nuclear factor- κ B pathway. *Molecular Medicine Reports*, 18, 4042-4050.
- Gattorno M, Hofer M, Federici S et al (2019) Eurofever Registry and the Paediatric Rheumatology International Trials Organisation (PRINTO). Classification Criteria for Autoinflammatory recurrent fevers 78:1025–1032.
- Ge, Z. W., Zhu, X. L., Wang, B. C., Hu, J. L., Sun, J. J., Wang, S., Chen, X. J., Meng, S. P., Liu, L., ve Cheng, Z. Y. (2019). MicroRNA-26b relieves inflammatory response

and myocardial remodeling of mice with myocardial infarction by suppression of MAPK pathway through binding to PTGS2. *International journal of cardiology*, 280, 152–159.

Gershoni-Baruch, R., Shinawi, M., Leah, K., Badarnah, K., ve Brik, R. (2001). Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *European Journal of Human Genetics*, 9(8), 634-637.

Gresnigt, M. S., ve van de Veerdonk, F. L. (2013, December). Biology of IL-36 cytokines and their role in disease. In *Seminars in immunology* (Vol. 25, No. 6, pp. 458-465). Academic Press.

Griffiths-Jones, S., Grocock, R. J., van Dongen, S., Bateman, A., ve Enright, A. J. (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic acids research*, 34(Database issue), D140–D144. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj112>

Ha, M., ve Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(8), 509-524.

Hammond, S. M., Boettcher, S., Caudy, A. A., Kobayashi, R., ve Hannon, G. J. (2001). Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. *Science*, 293(5532), 1146-1150.

Mirbase - Tabular list [Internet]. [cited 2023 July 13]. <https://www.mirbase.org/>

Hu, P., Dong, Z. S., Zheng, S., Guan, X., Zhang, L., Li, L., ve Liu, Z. (2021). The effects of miR-26b-5p on fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis (RA-FLS) via targeting EZH2. *Tissue ve cell*, 72, 101591.

Infervers - Tabular list [Internet]. [cited 2023 Jun 3]. <https://infervers.umai-montpellier.fr/web/search.php?n=1>

International FMF Consortium. (1997). Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell*, 90(4), 797-807.

Jonas, S., ve Izaurralde, E. (2015). Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nature reviews genetics*, 16(7), 421-433.

Justiz Vaillant AA, Qurie A. Interleukin. [Updated 2022 Aug 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499840/>

Kallinich, T., Haffner, D., Niehues, T., Huss, K., Lainka, E., Neudorf, U., ... ve Özen, S. (2007). Colchicine use in children and adolescents with familial Mediterranean fever: literature review and consensus statement. *Pediatrics*, 119(2), e474-e483.

Karpuzoglu, E.M., Kislak Ekin, R.M., Balci, S. *et al.* Altered expression of apoptosis-related, circulating cell-free miRNAs in children with familial Mediterranean fever: a cross-sectional study. *Rheumatol Int* **41**, 103–111 (2021).

- Kawamata, T., ve Tomari, Y. (2010). Making risc. *Trends in biochemical sciences*, 35(7), 368-376.
- Khalife, J., Ghose, J., Martella, M., Viola, D., Rocci, A., Troadec, E., Terrazas, C., Satoskar, A. R., Gunes, E. G., Dona, A., Sanchez, J. F., Bergsagel, P. L., Chesi, M., Pozhitkov, A., Rosen, S., Marcucci, G., Keats, J. J., Hofmeister, C. C., Krishnan, A., Caserta, E., ... Pichiorri, F. (2019). MiR-16 regulates crosstalk in NF- κ B tolerogenic inflammatory signaling between myeloma cells and bone marrow macrophages. *JCI insight*, 4(21), e129348.
- Kilic, L. (2015). Interleukin-1 targeting in patients with familial Mediterranean fever. *Modern Rheumatology*, 25(4), 636-641.
- Kozomara, A., ve Griffiths-Jones, S. (2014). miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic acids research*, 42(D1), D68-D73.
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., ve Tuschl, T. (2001). Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294(5543), 853-858.
- Lancieri, M., Bustaffa, M., Palmeri, S., Prigione, I., Penco, F., Papa, R., ... ve Gattorno, M. (2023). An update on familial Mediterranean fever. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9584.
- Lau, N. C., Lim, L. P., Weinstein, E. G., ve Bartel, D. P. (2001). An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294(5543), 858-862.
- Lee, R. C., ve Ambros, V. (2001). An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *science*, 294(5543), 862-864.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., ve Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5), 843-854.
- Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S., ve Kim, V. N. (2002). MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *The EMBO journal*.
- Li, B., Zhang, Z., ve Fu, Y. (2021). Anti-inflammatory effects of artesunate on atherosclerosis via miR-16-5p and TXNIP regulation of the NLRP3 inflammasome. *Annals of translational medicine*, 9(20), 1558.
- Lidar, M., ve Livneh, A. (2007). Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med*, 65(9), 318-24.
- Liu, J. ., Gao, W. ., Sheng, Y. ., Sun, J. ., ve Wen, D. (2023). Resveratrol drives ferroptosis of acute myeloid leukemia cells through Hsa-miR-335-5p/NFS1/ GPX4 pathway in a ROS-dependent manner: Resveratrol drives ferroptosis of acute myeloid leukemia cells. *Cellular and Molecular Biology*, 69(7), 131-137.

- Livak, K. J., ve Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, 25(4), 402–408.
- Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D., Zaks, N., Kees, S., Lidar, T., ... ve Pras, M. (1997). Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis ve Rheumatism*, 40(10), 1879-1885.
- Malcova, H., Strizova, Z., Milota, T., Striz, I., Sediva, A., Cebecauerova, D., ve Horvath, R. (2021). IL-1 Inhibitors in the Treatment of Monogenic Periodic Fever Syndromes: From the Past to the Future Perspectives. *Frontiers in immunology*, 11, 619257.
- Marek-Yagel, D., Berkun, Y., Padeh, S., Abu, A., Reznik-Wolf, H., Livneh, A., ... ve Pras, E. (2009). Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever. *Arthritis ve Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 60(6), 1862-1866.
- Mendell, J. T., ve Olson, E. N. (2012). MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell*, 148(6), 1172–1187.
- Nicklin, M. J., Barton, J. L., Nguyen, M., FitzGerald, M. G., Duff, G. W., ve Kornman, K. (2002). A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics*, 79(5), 718-725.
- Nishida A., Hidaka K., Kanda T., Imaeda H., Shioya M., Inatomi O., et al. (2016). Increased Expression of Interleukin-36, a Member of the Interleukin-1 Cytokine Family, in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 22 303–314. 10.1097/MIB.0000000000000654
- O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., ve Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402.
- Özen, S. (2021). Updates on the role of epigenetics in familial Mediterranean fever (FMF). *Orphanet Journal of Rare Diseases*. doi:10.1186/s13023-021-01829-4.
- Özen, S., ve Bilginer, Y. (2014). A clinical guide to autoinflammatory diseases: Familial Mediterranean fever and next-of-kin. *Nature Reviews Rheumatology*, 10(3), 135-147.
- Özçakar, Z. B., Yalçınkaya, F., Çakar, N., Acar, B., Bilgiç, A. E., Uncu, N., ... ve Kasapçopur, Ö. (2011). Application of the new pediatric criteria and Tel Hashomer criteria in heterozygous patients with clinical features of FMF. *European journal of pediatrics*, 170, 1055-1057.
- Pasquinelli, A. E., Reinhart, B. J., Slack, F., Martindale, M. Q., Kuroda, M. I., Maller, B., ... ve Ruvkun, G. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408(6808), 86-89.

- Queen, D., Ediriweera, C., ve Liu, L. (2019). Function and Regulation of IL-36 Signaling in Inflammatory Diseases and Cancer Development. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 317.
- Saad, N., Duroux-Richard, I., Touitou, I., Jeziorski, E., ve Apparailly, F. (2023). MicroRNAs in inflammasomopathies. *Immunology letters*, 256-257, 48–54.
- Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, Centola M, Deng Z, Sood R, Kastner DL. Familial Mediterranean fever at the millenium. Clinical spectrum, ancient mutations and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health. *Medicine (Baltimore)*. 1998;77:268-297.
- Sarı, O. (2013). Birinci basamakta ailevi Akdeniz ateşine genel yaklaşım. *Konuralp Medical Journal*, 5(2), 75-80.
- Seal, R. L., Chen, L. L., Griffiths-Jones, S., Lowe, T. M., Mathews, M. B., O'Reilly, D., Pierce, A. J., Stadler, P. F., Ulitsky, I., Wolin, S. L., ve Bruford, E. A. (2020). A guide to naming human non-coding RNA genes. *The EMBO journal*, 39(6), e103777.
- Sims J. E., Smith D. E. (2010). The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 10 89–102. 10.1038/nri2691
- Sohar, E., Gafni, J., Pras, M., ve Heller, H. (1967). Familial Mediterranean fever: a survey of 470 cases and review of the literature. *The American journal of medicine*, 43(2), 227-253.
- Sönmez, H. E., Batu, E. D., ve Özen, S. (2016). Familial Mediterranean fever: current perspectives. *Journal of inflammation research*, 9, 13–20.
- Swarts, D. C., Makarova, K., Wang, Y., Nakanishi, K., Ketting, R. F., Koonin, E. V., ... ve Van Der Oost, J. (2014). The evolutionary journey of Argonaute proteins. *Nature structural ve molecular biology*, 21(9), 743-753.
- Tabara, H., Sarkissian, M., Kelly, W. G., Fleenor, J., Grishok, A., Timmons, L., ... ve Mello, C. C. (1999). The rde-1 gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell*, 99(2), 123-132.
- Taylor, S. L., Renshaw, B. R., Garka, K. E., Smith, D. E., ve Sims, J. E. (2002). Genomic organization of the interleukin-1 locus. *Genomics*, 79(5), 726-733.
- Tornero-Esteban, P., Rodríguez-Rodríguez, L., Abásolo, L., Tomé, M., López-Romero, P., Herranz, E., González, M. A., Marco, F., Moro, E., Fernández-Gutiérrez, B., ve Lamas, J. R. (2015). Signature of microRNA expression during osteogenic differentiation of bone marrow MSCs reveals a putative role of miR-335-5p in osteoarthritis. *BMC musculoskeletal disorders*, 16, 182.
- Touitou, I. (2001). The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *European Journal of Human Genetics*, 9(7), 473-483.
- Towne J. E., Garka K. E., Renshaw B. R., Virca G. D., Sims J. E. (2004). Interleukin (IL)-1F6, IL-1F8, and IL-1F9 signal through IL-1Rrp2 and IL-1RAcP to activate the

pathway leading to NF-kappaB and MAPKs. *J. Biol. Chem.* 279 13677–13688. 10.1074/jbc.m400117200

Towne J., Sims J. (2012). IL-36 in psoriasis. *Curr. Opin. Pharmacol.* 12 486–490. 10.1016/j.coph.2012.02.009

Towne, J. E., Renshaw, B. R., Douangpanya, J., Lipsky, B. P., Shen, M., Gabel, C. A., ve Sims, J. E. (2011). Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36 α , IL-36 β , and IL-36 γ) or antagonist (IL-36Ra) activity. *Journal of Biological Chemistry*, 286(49), 42594-42602.

Tunca M, Akar S, Hawkins PN, Booth SE, Sengul B, Yavuzsen TU, Oktem S, Soy Turk M, Akkoc N, Booth DR. The significance of paired *MEFV* mutations in individuals without symptoms of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet.* 2002;10:786-789

Valasek, M. A., ve Repa, J. J. (2005). The power of real-time PCR. *Advances in physiology education*, 29(3), 151–159.

van de Veer donk F. L., Netea M. G. (2013). New insights in the immunobiology of IL-1 family members. *Front. Immunol.* 4:167. 10.3389/fimmu.2013.00167

van de Veer donk, F. L., Stoeckman, A. K., Wu, G., Boeckermann, A. N., Azam, T., Netea, M. G., ... ve Dinarello, C. A. (2012). IL-38 binds to the IL-36 receptor and has biological effects on immune cells similar to IL-36 receptor antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 3001-3005.

Wightman, B., Ha, I., ve Ruvkun, G. (1993). Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75(5), 855-862.

Xu, Y., Shen, L., Li, F., Yang, J., Wan, X., ve Ouyang, M. (2019). microRNA-16-5p-containing exosomes derived from bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit proliferation, migration, and invasion, while promoting apoptosis of colorectal cancer cells by downregulating ITGA2. *Journal of cellular physiology*, 234(11), 21380–21394.

Yalcinkaya, F., Cakar, N., Misirlioglu, M., Tümer, N., Akar, N., Tekin, M., ... ve Öner, A. (2000). Genotype-phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial Mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis. *Rheumatology*, 39(1), 67-72.

Yalçinkaya F, Özen S, Ozçakar ZB et al (2019) A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford)* 48:395–398.

Yilmaz E, Özen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, Saatci U, Bakkaloglu A, Ozguc M. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:553-555.

Yu, Y., Park, S., Lee, H., Kwon, E. J., Park, H. R., Kim, Y. H., ve Lee, S. G. (2023). Exosomal hsa-miR-335-5p and hsa-miR-483-5p are novel biomarkers for rheumatoid

arthritis: A development and validation study. *International immunopharmacology*, 120, 110286.

Zhao DL, Wu QL (2019) Effect of inhibition to Yes-related proteins-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway through miR-195-5p on apoptosis of gastric cancer cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 23:6486–6496.

Zheng C, Zheng Z, Sun J, Zhang Y, Wei C, Ke X, Liu Y, Deng L, Wang H (2017) MiR-16-5p mediates a positive feedback loop in EV71-induced apoptosis and suppresses virus replication. *Sci Rep* 7:16422.

Zhu, L., Chen, L., Shi, C. M., Xu, G. F., Xu, L. L., Zhu, L. L., Guo, X. R., Ni, Y., Cui, Y., ve Ji, C. (2014). MiR-335, an adipogenesis-related microRNA, is involved in adipose tissue inflammation. *Cell biochemistry and biophysics*, 68(2), 283–290.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sedef ERDİK
Eğitim	
Lise	Balıkesir T.C. Ziraat Bankası Fen Lisesi (2015)
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi (2015-2021)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2023-2025)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	İyi derecede (YÖKDİL: 85, Mart 2021)

EKLER

Evrak Tarih ve Sayısı: 11.07.2024-E.402598



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	FMF Hastalığı ile MikroRNA'lar Arasındaki İlişki	
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu
	KURUL ADRESİ	Balıkesir Üniversitesi Çağış Yerleşkesi 10145 Balıkesir
	TELEFON	(0266) 612 14 18
	FAKS	(0 266) 612 14 17
	E-POSTA	sb.etikkurulu@balikesir.edu.tr
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI, ADI-SOYADI	-
	DESTEKLEYİCİ	-
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ (TÜBİTAK vb kaynaklardan destek alanlar için) UNVANI, ADI-SOYADI	-	
YARDIMCI ARAŞTIRMACI VE BÖLÜMÜ	Doç. Dr. Hilmi BOLAT BAUN Tıp Fakültesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi Sedef ERDİK BAUN Tıp Fakültesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi	
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Retrospektif	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2024/99	Tarih: 25/06/2024
	Başvuru dosyası ile ilgili belgeler; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve UYGUN BULUNMUŞ olup usulüne uygun gerçekleştirilmesinde bilimsel ve etik sakınca OLMADIGINA oy birliğiyle karar verilmiştir. Araştırmanın tüm süreçlerinde ilgili kurum, kuruluş ve kişilerden gereken izinlerin alınmasından araştırmacılar sorumludur.	

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı	Adı-Soyadı	Görevi	Araştırma ile İlişkisi		İmza
			VAR	YOK	
Prof. Dr.	Sibel ERGÜN	Başkan		X	
Doç. Dr.	Sevde AKSU	Üye		X	
Doç. Dr.	Selda YÖRÜK	Üye		X	
Doç. Dr.	Özkan IŞIK	Üye		X	KATILMADI
Doç. Dr.	Hilmi BOLAT	Üye	X		KATILMADI
Dr. Öğr. Üyesi	Oğuzhan KORKUT	Üye		X	
Dr. Öğr. Üyesi	Emrah ÖZDEMİR	Üye		X	KATILMADI
Dr. Öğr. Üyesi	Mehmet ÖZÜÇLİ	Üye		X	KATILMADI