

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ ÖN TANILI HASTALARDA MEFV
GEN MUTASYONLARI VE KARDİYOVASKÜLER
HASTALIKLARLA İLGİLİ BAZI GENLERİN
POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEKLİSANS TEZİ

DERYA SUCU KAYNAK

Balıkesir, Eylül-2007

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ ÖN TANILI HASTALARDA MEFV
GEN MUTASYONLARI VE KARDİYOVASKÜLER
HASTALIKLARLA İLGİLİ BAZI GENLERİN
POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEKLİSANS TEZİ

DERYA SUCU KAYNAK

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Feray KÖÇKAR

Sınav Tarihi :14.09.2007

Jüri Üyeleri :Doç. Dr. Feray Köçkar

Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY

Yrd. Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR

Balıkesir, Eylül-2007

ÖZET

AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ ÖN TANILI HASTALARDA MEFV GEN MUTASYONLARI VE KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARLA İLGİLİ BAZI GENLERİN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ

Derya SUCU KAYNAK

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

(Yükseklisans Tezi /Tez Danışmanı: Doç. Dr. Feray KÖÇKAR)

Balıkesir, 2007

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), MEFV genindeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif bir hastalıktır. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), özellikle Akdeniz etrafında yerleşim gösteren Yahudileri, Arapları, Türkleri ve Ermenileri etkiler. Klasik klinik tablo, tekrarlayan ve kendi kendini sınırlayan ateş ile birlikte karın ağrısı, plevrit, artrit ve erizipel benzeri deri lezyonlarıdır.

FMF'den sorumlu MEFV geni, kromozom 16p13.3'de haritalanmış ve 781 amino asit uzunluğunda *pirin/marenostrin* olarak isimlendirilen ve nötrofiller, eozinofiller ve aktive olmuş monositlerin sitosollerinde sentezlenen bir proteini kodlamaktadır. . MEFV geni 10 ekzondan oluşur ve bugüne kadar 76'dan fazla mutasyonu tanımlanmıştır.

Bu çalışmada, Türk populasyonunda FMF ön tanılı 421 birey ile kontrol grubunu oluşturan 100 sağlıklı bireyde MEFV geninde en sık rastlanılan 12 mutasyon FMF strip assay ile taranmıştır. Homozigot olarak belirlenmiş 50 birey ve normal allele sahip ve kısmi heterozigot olan 100 kontrol birey kardiyovasküler risk oluşturabilecek 10 ayrı gende (MTHFR C677T, FV Leiden, FV H1299R, ACE, FXIII V34L, PAI-1, HPA-1, APOE, APOB, FII G20210A, beta-Fibrinojen -455 G>A) toplam 12 polimorfizmin genotipleri ve biyokimyasal parametreleri belirlenmiştir ve karşılaştırılmıştır. Buna göre, 421 bireyin %40,4'ünde MEFV geninde homozigot mutant, heterozigot ve birleşik mutasyon polimorfizimleri belirlenmiştir. Belirlenen mutasyonlar M694V %54, M680I G>C %17,6, E148Q %17,6, A744S %5,29 ve V726A %11,76, P369S %2,35, F479L %1,17, M694I %1,76, K695R %5,29, R761H %3,52, M680I G>A %0.0 ve I692del %0.0 oranındadır. Bunlar arasında R761H mutasyonu Türk popülasyonda ilk olarak tespit edilmiş mutasyondur.

Ayrıca, FMF homozigot mutasyona sahip bireylerde ve sağlıklı kontrol bireylerinde kardiyovasküler risk açısından önemli polimorfizimler belirlendiğinde, FMF homozigot bireylerde PAI-1, ACE I/D, beta-fibrinogen -455G>A ve FXIII V34L polimorfizimlerinin kontrol grubuna göre daha fazla bulunduğu da tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: FMF, Ailesel Akdeniz Ateşi, Kardiyovasküler Risk, Strip Assay, Genetik Test, MEFV Geni

ABSTRACT

DETERMINATION OF MEFV GENE MUTATIONS AND SOME GENES POLYMORPHISMS ASSOCIATED WITH CARDIOVASCULAR DISEASE IN PATIENTS PRIMARILY DIAGNOSED WITH FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

Derya SUCU KAYNAK

Balıkesir University , Institute of Science, Department of Biology

(Msc. Thesis / Supervisor: Assis. Prof. Dr. Feray KOCKAR

Balıkesir, Turkey, 2007

Familial Mediterranean Fever (FMF), is an autosomal resesif disease resulted from mutations of MEFV gene. FMF is a disease affecting particularly in Jewish, Arabic, Turkish and Armenian people around Mediterian region. Clinical feature of FMF is repeatedly abdominal pain with high fever, Plevritis, arthritis, skin lesions e.g. erysipelas.

MEFV gene, also known FMF disease gene, is located in chromosome 16p13.3 and encodes a 781 amino acid long protein called pyrin/marenostrin that is expressed in the cytosols of neutrophils, eosinophils and activated monocytes. MEFV gene has 10 exons and to date, more than 76 mutations in the gene have been defined.

In this study, 421 people primarily diagnosed with FMF and 100 healthy volunteers were screened with FMF strip assay with the respect of 12 mutations in the MEFV gene. 12 polymorphisms in 10 different genes (FV, FII, FXIII, HPA-1, PAI-1, ACE, MTHFR, APOB, APOE, Beta-Fibrinogen) postulated as important parameters in terms of cardiovascular risk and their biochemical parameters were determined in 50 people of homozygote FMF mutations and 100 healthy people with normal and heterozygote alleles. As a result, 40.4% of 421 people have been found as homozygote mutant, heterozygote mutant and compound heterozygote. These mutations were M694V %54, M680I G>C %17,6, E148Q %17,6, A744S %5,29 ve V726A %11,76, P369S %2,35, F479L %1,17, M694I %1,76, K695R %5,29, R761H %3,52, M680I G>A %0.0, I692del %0.0. Amongst these determined mutations R761H is the first report in the Turkish populations.

In addition, as a result of the of cardiovascular related polymorphisms in the FMF homozygotes and healthy control group, FMF homozygote people has different ratio PAI-1, ACE I/D, beta-fibrinogen -455G>A, FXIII V34L polymorphism compared to control group.

Key words, FMF, Familial Mediterranean Fever, Cardiovascular Risk, Strip Assay, Genetic Test, MEFV Gene.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, Anahtar Sözcükler	ii
ABSTRACT, Key Words	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Ailesel Akdeniz Ateşi	2
1.1.1 Tarihçesi	2
1.1.2. Epidomiyoloji	3
1.1.3. Klinik Bulgular	4
1.1.4. Laboratuvar Bulguları	6
1.1.5. Tedavi	7
1.1.6. MEFV Geni	8
1.1.6.1. MEFV Geninde Mutasyonların Dağılımı	9
1.1.6.2. MEFV Mutasyonlarının Fenotipik Etkileri	11
1.1.6.3. MEFV Mutasyonlarının Populasyonlara Göre Dağılımı	12
1.1.7. Pirin Proteini	13
1.1.7.1. Pirin Proteinin Yapı ve Fonksiyonları	13
1.1.7.2. Pirinin PRYSPRY Domaininde MEFV Mutasyonlarının Lokalizasyonu	18
1.1.8. Ailesel Akdeniz Ateşi'ne MEFV Geni Dışında Etki Eden Moleküler Değişimler	21
1.1.8.1. Major histocompatibility complex class I chain-related gene A (MICA)	21
1.1.8.2. Serum Amiloid A1 Genotipi	22
1.1.9. Genetik Tanı	22
1.1.10. MEFV Geninin Diğer Hastalıklarla İlişkisi	23
1.1.10.1. Behçet Hastalığında MEFV Mutasyonları	23
1.1.10.2. Amiloidoz ve MEFV Mutasyonları	23
1.1.10.3. Romatoid Artrit ve MEFV Mutasyonları	25
1.1.12. FMF'li Hastalarda Kardiyovasküler Riskler	25
1.2. Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkili Genetik Polimorfizmler	27
1.2.2. Faktor V Leiden Mutasyonu	27
1.2.2. Protrombin (Faktör II) G20210a Polimorfizmi	29
1.2.3. Faktör XIII Val34leu Polimorfizmi	30

1.2.4. Beta Fibrinojen -455 G>A Polimorfizmi	30
1.2.5. Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 4g/5g Polimorfizmi	31
1.2.6. Glikoprotein IIIA PLA1/PLA2 Polimorfizmi	32
1.2.7. MTHFR C677T Ve A1298C Polimorfizmleri	33
1.2.6. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) <i>insersiyon/delesyon</i> Polimorfizmi	35
1.2.9. APOB R3500Q Polimorfizmi	36
1.2.10. APOE Polimorfizmleri	37
1.3. Revers Hibridizasyon Yöntemi	38
1.3. AMAÇ	41
2. MATERYAL VE YÖNTEMLER	42
2.1. MATERYAL	42
2.1.1.Çalışmada Kullanılan Örnekler	42
2.1.2. Çalışmada Kullanılan malzemeler	43
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Laboratuar Gereçleri	44
2.2. YÖNTEMLER	44
2.2.1. Genotip Belirlenmesi	44
2.2.1.1. Genomik DNA İzolasyonu	44
2.2.1.2. Çoklu-PCR Amplifikasyonu	45
2.2.1.3. Membran Üzerine PCR Ürünlerinin Hibridizasyonu (Reverse-Hibridizasyon Yöntemi)	47
2.2.1.4.1. Sonuçların yorumlanması	48
2.2.2. Biyokimyasal Parametre Değerlerinin Belirlenmesi	50
2.2.3. İstatistiksel Analiz	51
3. BULGULAR	52
3.1.FMF Ön Tanılı Hastaların MEFV Mutasyonlarının ve Genotiplerinin Belirlenmesi	52
3.1.1.Türk popülasyonunda FMF mutasyonunun dağılımı	52
3.2. Kontrol Bireyleri ve FMF hastalarının Karşılaştırılması	58
3.2.1. Sağlıklı Bireylerde FMF ve Bazı Kardiyovasküler Risk Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	58
3.2.2. FMF Hastalarında FMF Mutasyonları ve Bazı Kardiyovasküler Risk Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	65
3.3. Sağlıklı Bireyler ve FMF Hastalarında Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Belirlenmesi	72
3.4. Sağlıklı Bireyler ve FMF Hastalarında Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin karşılaştırılması	72
3.4.1. Sağlıklı Bireyler Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması	72
3.4.2. FMF Hastalarının Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması	78
3.5. Kontrol Bireylerinin ve FMF Hastalarının Karşılaştırmalı Analizi	82
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	84
KAYNAKLAR	96

KISALTMALAR

<u>Kısaltma</u>	<u>Anlamı</u>
FMF	Familial Mediterranean Fever
AAA	Ailesel Akdeniz Ateşi
MEFV	FMF geni
CVD	Kardiyovasküler Hastalık
HSP	Henoch Schönlein Purpurası
PAN	Poliarteritis Nodosa
SAA	Serum Amiloid A
PRYSPRY	Pirin Domaini
MICA	Major histocompatibility complex class I chain-related gene A
BD	Behçet Hastalığı
RA	Romatoid Artrit
IL	İnterlökin
IMT	İntima-Media Kalınlığı
FV	Faktör V
FVL	Faktör V Leiden
APC	Aktifleşmiş Protein-C
PTH	Protrombin (Faktör II)
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
HPA-1	Glikoprotein IIIa
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
ACE	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
APO B	Apolipoprotein B
APO E	Apolipoprotein E

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	Kolşisin	8
Şekil 1.2	MEFV Geninin Yeri	9
Şekil 1.3	MEFV Genindeki Mutasyonlar.	10
Şekil 1.4	Pirin Protein Domaini	14
Şekil 1.5	Pirinin inflamasyon hipotezi	15
Şekil 1.6	FMF gen ürünü pirin proteini.	16
Şekil 1.7	FMF Patofizyolojisi	17
Şekil 1.8	Kaspaz-1 ile pirin etkileşimini gösteren bir model.	18
Şekil 1.9	Pirin proteini ve mutasyonların olası bölgeleri	19
Şekil 1.10	Pirinin PRYSPRY domaini	20
Şekil 1.11	Kardiyovasküler hastalıklara neden olan APOE, PAI-1, FV, MTHFR ve Protrombin'nin yabani ve mutant tiplerinin karşılaştırılması	30
Şekil 1.12	Fibrinojen gen lokusunun organizasyonu	31
Şekil 1.13	PAI-1 geninin organizasyonu	32
Şekil 1.14	Biotin işaretli primerler ile çoklu PCR	39
Şekil 1.15	Revers-Hibridizasyon Yöntemi	40
Şekil 2.1	FMF stripassay ve CVD stripassay	49
Şekil 2.2	Wild ve mutant bandlar	49
Şekil 2.3	Revers hibridizasyonda genotiplendirme	49
Şekil 2.4	Bireysel izoformların kombinasyonu ile ortaya çıkan 6 APO-E genotipi	50
Şekil 3.1	Normal, heterozigot, birleşik heterozigot ve homozigot mutasyonları gösteren FMF Strip Assay.	59
Şekil 3.2	Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili polimorfizmleri gösteren CVD Strip Assay.	59

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1	FMF hastalığından etkilenmiş bazı popülasyonlarda MEFV mutasyonlarının dağılımı	13
Çizelge 2.1	FMF ve CVD strip assay ile çalışılan mutasyonlar	43
Çizelge 2.2	FMF ve CVD strip assay için PCR ve Hibridizasyon solüsyonları	43
Çizelge 2.3	Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri	44
Çizelge 2.4	Bir hasta için FMF strip assay içeriği	46
Çizelge 2.5	Bir hasta için CVD strip assay içeriği	46
Çizelge 2.6	FMF strip assay ve CVD strip assay için PCR protokolü	46
Çizelge 3.1	FMF tanılı hastaların yaş,cinsiyet ve mutasyon dağılımları	54
Çizelge 3.2	Türk popülasyonunda FMF mutasyonlarının cinsiyete göre dağılımı	57
Çizelge 3.3	MEFV mutasyonlarını homozigot taşıyan hastaların dağılımı	57
Çizelge 3.4	MEFV mutasyonlarını birleşik heterozigot olarak taşıyan bireylerin cinsiyete göre dağılımı	58
Çizelge 3.5	FMF olmayan sağlıklı bireylerde kardiyovasküler panelde bulunan bazı genlere ait polimorfizm durumları	61
Çizelge 3.6	Sağlıklı bireylerde FMF ve bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin cinsiyete göre dağılımları	64
Çizelge 3.7	FMF hastalarının cinsiyet, yaş ve genotipleri	67
Çizelge 3.8	Cinsiyete göre FMF mutasyonlarının dağılımı	68
Çizelge 3.9	FMF homozigot olarak belirlenmiş hasta bireylerde kardiyovasküler panelde bulunan bazı genlere ait polimorfizm durumları	69
Çizelge 3.10	FMF hastalarında bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin cinsiyete göre dağılımları	70
Çizelge 3.11	FMF hastalarında ve sağlıklı bireylerde bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin karşılaştırılması	71
Çizelge 3.12	FMF homozigot olmayan sağlıklı bireylere ait hemogram değerleri.	73
Çizelge 3.13	FMF Homozigot olmayan sağlıklı bireylere ait bazı biyokimyasal parametreler	75

Çizelge 3.14	FMF homozigot mutant tanısı konmuş hastalara ait hemogram değerleri	78
Çizelge 3.15	FMF Homozigot tanısı konmuş hasta bireylere ait bazı biyokimyasal parametreler	80
Çizelge 3.16	Kontrol bireyleri ve FMF hastalarında ölçülen hemogram ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırmalı istatistiksel değerlendirilmesi	83

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak hazırlanan bu çalışmanın deneysel aşamaları, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'ı **Doç. Dr. Yeşim ÖZARDA**, **LEOMED Ltd. Şti.** ve **ELÇİ MEDİKAL Ltd. Şti'nin** destek ve katkılarıyla sonuçlanmıştır.

Tezin oluşturulması sırasında beni başından sonuna kadar yönlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgmeden bilimsel çalışmanın gereklerini öğreten değerli danışman hocam **Doç. Dr. Feray KÖÇKAR'a**,

Bu tezin ortaya çıkmasında klinik bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli hocam **Doç. Dr. Yeşim Özarda'ya**,

Eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan büyük onur ve mutluluk duyduğum, azmini, başarılarını, insancıl yaklaşımlarını daima kendime örnek aldığım ve alacağım Sayın Ayhan **ELÇİLER'e**,

Bu çalışmamın ortaya çıkmasında başından sonuna kadar desteğini aldığım **LEOMED Ltd. Şti.** **Arda KÖSE** ve **ELÇİ MEDİKAL Ltd. Şti.** **Onur BAŞ** ve **Emre ELÇİLER'e** ve iş arkadaşlarıma,

Yardımları için **Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı çalışanlarına**,

Beni yalnız bırakmayan arkadaşlarım **Sabiha PARLAK**, **Semra IŞIK** ve **Arş. Grv. Hatice BOZKURT'a**

Hayattaki amacım doğrultusunda kayıtsız şartsız desteği ile beni yönlendiren ve her zaman yanımda olduğunu hissettiğim sevgili ablam **Hülya SUCU'ya**,

Yaşamımın her anında beni destekleyen, destek ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen beni bugünlere getiren sevgili **Anne** ve **Babama**

Çalışmalarım sırasında gösterdiği sonsuz sabırla beni destekleyen, yaşamıma ayrı bir anlam katan, sevgiyi her zaman hak eden eşim **Eray KAYNAK'a**

Bir yürek dolusu sevgi ve teşekkürlerimle...

Derya SUCU KAYNAK
Eylül-2007

1. GİRİŞ

Otoinflamatuvar hastalıklar, antijen spesifik T hücreleri ve fazla konsantrasyonda otoantikörlerin yokluğunda oluşan, kalıtsal periyodik ateş sendromlarının da dahil edildiği, görünüşte herhangi bir nedenin sebep olmadığı inflamasyon olarak karakterize edilmiş hastalıkların bir grubudur. Ailesel Akdeniz Ateşi (Familial Mediterranean Fever, FMF), ataklar halinde gelen ateş ve ona eşlik eden seröz zarlarının inflamasyonu ile karakterize, otozomal resesif geçişli, otoinflamatuvar bir hastalıktır [1,2]. FMF, özellikle Akdeniz etrafında yerleşim gösteren Yahudileri, Arapları, Türkleri ve Ermenileri etkiler. Hastalığa dünyanın değişik bölgelerinde de nadir olarak rastlanılır [5]. Klasik klinik tablo, tekrarlayan ve kendi kendini sınırlayan ateş ile birlikte karın ağrısı, plevrit, artrit ve erizipel benzeri deri lezyonlarıdır. Ataklar genellikle geç çocukluk, adölesan dönemde ortaya çıkmaktadır. %60-70 olguda semptomlar ilk 10 yaşta, %80-90 olguda 20 yaştan önce görülmektedir. Ortalama başlangıç yaşı 4,5 olarak saptanmıştır [8-10]. Atakların sıklığı ve süresi hastadan hastaya değişiklik gösterir. Ortalama süre 1-4 gün, sıklık haftada 1 ile yılda 1 arasında değişebilmektedir. FMF'in ülkemizde görülme sıklığı 1/1000 olarak bilinmektedir. Taşıyıcılık oranı ise değişik araştırmalarda %15-34 olarak ifade edilmiştir. Bir başka deyişle ülkemizde her 5 kişiden biri taşıyıcı konumdadır. Hastalığın en korkulan yanı böbrek yetmezliğine neden olan amiloidoz ile komplike olmasıdır [2,3].

FMF'den sorumlu olan MEFV geni, 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olmuştur ve 781 amino asit uzunluğunda *pirin/marenostrin* olarak isimlendirilen ve nötrofiller, eozinofiller ve aktive olmuş monositlerin sitosollerinde sentezlenen bir proteini kodlamaktadır [2,7]. Pirin proteini, FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nötrofillerin aktivitesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol aldığı belirtilmektedir. Bu bulgulara rağmen kesin patojeni anlayılamamıştır. MEFV geni 10 ekzondan oluşur ve bugüne kadar 76'dan fazla mutasyon tanımlanmıştır [20].

Söz konusu mutasyonların çoğunluğu missense mutasyon olmakla birlikte nonsens ve delesyon mutasyonları da tanımlanmıştır. Mutasyonların büyük bir bölümü ekzon 10 içerisinde küçük bir alanda lokalize olmuştur [2]. Türk toplumunda yapılan çalışmalarda, en sık karşılaşılan mutasyonlar E148Q, M680I, M694V ve V726A olarak bildirilmiştir [11].

FMF hastalarının klinik remisyonunda inflamasyona eğilime sahip oldukları bilinmektedir. Doğal antikoagülant yolun, normal fonksiyonunun özellikle azalan inflamasyon cevaba ihtiyacı vardır. FMF'in subklinik inflamasyon durumunda ise doğal antikoagülant cevabın yükseldiği belirtilmektedir [12].

İnflamasyon, güçlü bir protrombotik uyarandır. İnflamasyon süreci, prokoagülant faktörleri yükseltirken, doğal antikoagülant faktörleri ve fibrinolitik aktiviteyi düşürür. Böylece inflamasyon, hemostatik mekanizmaları tromboz lehine değiştirir. Epidemiyolojik çalışmalarda, inflamasyon ve hemostatik değişim ile kardiyovasküler olayların riski arasındaki ilişkilerde sürekli gösterildiği gibi kardiyovasküler hastalıklarda inflamasyon ve tromboz önemli mekanizmalardır [7]. Birkaç çalışma, FMF'in şiddeti ve gelişimi üzerine koagülasyon mekanizmalarının etkilerini belirtmişlerdir [13].

1.1. AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ (AAA-FMF)

1.1.1 TARİHÇE

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), Türkler, Yahudiler, Araplar ve Ermeniler'de sık olarak görünür. İlk FMF olguları bu etnik gruplarda tanımlanmıştır. Dünya literatürlerinde ilk kez 1908 yılında tekrarlayan ateş, abdominal ağrı ve lökositozu olan 16 yaşında Yahudi bir kız hastada 'Unusual Paroksizmal Sendrom' tanımlanmasıyla Janeway ve Mosenthal tarafından bildirilmiştir [14]. İlk olgudan sonra 1945 yılında Amerikalı araştırmacı Siegall, 'Benign Paroksizmal Peritonit' adı tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları ile seyreden bir klinik bir sendrom olarak tanımlamıştır [14]. 1948 yılında Reiman 'Periyodik Hastalık' tanımlamasını

kullanmıştır [15]. 1951 yılında ilk kez Catton ve Mamou hastalığın ailevi olduğuna dikkat çekmişler ve 1956 yılında aynı yazarlar FMF' li hastalarda amiloid gelişebileceğini bildirmişlerdir [17]. Heler ve Sohar 1958 yılında ilk kez 'Familial Mediterranean Fever' (Ailesel Akdeniz Ateşi) tanımını kullanmışlar ve 1961 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir [18,19]. Türkiye'de ise ilk FMF hastası ' **Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu**' adı ile 1946 yılında Abrevaya Marmaralı tarafından bir erişkinde tanımlanmıştır [4]. 1972 yılında *kolsişin'in* tedavide kullanılmaya başlanması hastaların kaderini değiştiren bir buluş olmuştur. FMF hastalığının tarihsel sürecindeki ikinci önemli gelişme ise 1997 yılında, International FMF konsorsiyumu ve Fransız konsorsiyumu tarafından MEFV geni klonlanması ve 4 missens mutasyonun tanımlanmasıdır [20].

1.1.2. EPİDEMİYOLOJİ

FMF, prevalansı en yüksek olan periyodik ateş sendromu olup, tüm dünyada 10.000'den fazla FMF hastası olduğu düşünülmektedir. FMF, Sefardik Yahudiler, Araplar, Türkler ve Ermeniler gibi Akdeniz kökenli kişilerde daha sık görülmektedir [20]. Ancak bu hastalık İtalyanlar, Yunanlılar, Kübalılar ve Belçikalılarda da bildirilmiştir [21]. Sefardik Yahudilerinde prevalans 1/256-1/1000, taşıyıcılık oranı 1/8-16, Doğu Avrupa kökenli Yahudilerde (Ashkenazi) prevalansı 1/73.000 taşıyıcılık oranı 1/135, Ermenilerde prevalans 1/500, taşıyıcılık oranı 1/7, Türklerde prevalans 1-3/1000, taşıyıcılık oranı 1/3-5 ve Araplarda prevalans 1/2600 taşıyıcılık oranı ise 1/50 olduğu görülür. Türklerde bu oran 1/3-5 olmasına rağmen Türkiye'nin belli bölgelerinden köken alan kişilerde hastalığa daha fazla rastlanılmaktadır. FMF'de taşıyıcılık oranının bu kadar yüksek olması, heterozigotluğun hasta olmayan bu kişilerde Akdeniz Bölgesi'ndeki bir patojene selektif avantaj sağladığı hipotezinin ortaya atılmasına neden olmuştur [22,23]. Akraba evliliğinin daha fazla olduğu bölgelerde hastalığın ortaya çıkma riski de artmaktadır. FMF'de akraba evliliği sıklığı yaklaşık %30-40 civarındadır. Mutasyonların tanımlanması ve haplotiplerin analizi mutant genlerin atalarının Doğu Akdeniz'den geldiğini göstermektedir.

Belirtiler hastaların %60'da yaşamın ilk 10 yılında, %90'da ise ilk 20 yaşta ortaya çıkar. Ortalama başlangıç yaşı 4,5 yaşdır. Yaşamın ilk yıllarında bile belirti ortaya çıkabilir. 40 yaşından sonra başlaması ise nadirdir. FMF erkeklerde kızlara göre 1.1 ile 2.6 oranında daha sık görülmektedir [8,9]. Hastalığa bağlı olarak gelişen amiloidoz da erkeklerde belirgin olarak daha fazla rastlanmaktadır.

1.1.3. KLİNİK BULGULAR

Hastalık ateşli, ağrılı ataklarla karakterize olup 38,5-40 C° arasındaki yüksek ateşe, periton, plevra ya da sinovyum seröz membranlarından birinde oluşan inflamasyonun neden olduğu ciddi karın, göğüs veya alt ekstremitenin geniş eklemlerinden birinin ağrısı eşlik eder. Hastalar genellikle atakları başlatan bir etken tarif etmezler ancak FMF ataklarının bazı hastalarda menstruasyon, duygusal stres veya ağır fiziksel aktivite dönemlerine rastladığı görülür. Bazı hastalarda ise titreme benzeri şikayetler de görülmektedir [20].

Ataklar kısa süreli olup 1-3 gün sürer ve tedavi edilmeden kendiliğinden iyileşir. Ancak atağa eşlik edebilen artrit veya artralji daha uzun sürebilmektedir. Ortaya çıkan ateşin yüksekliği ya da tutulan inflamasyon bölgesi bir ataktan diğerine farklılık gösterebilir. Atakların seyri hastalar arasında çeşitlilik gösterebileceği gibi aynı ailenin bireylerinde bile farklı atak seyirleri görülebilmektedir. Ömür boyu süren bu hastalığın seyrinde bir hastanın, hastalığın çok çeşitli fomları ile karşılaşması mümkündür ancak sıklıkla aynı hastada yıllar boyunca aynı tip atak görülür [9].

Erkek:Kadın oranı erkekler lehine olup 1,2:1'dir. Bunun nedeninin hastalık fenotipinin kadınlardaki eksik penetransı ya da MEFV'nin iki alelinde de mutasyon taşıyan kız zigotlardaki artmış embriyonik ölümden kaynaklanabileceği düşünülmektedir [20,25]

Daha önce çok sayıda atak olmasına rağmen tanı koymak güç olabilir çünkü pekçok hastalık tekrarlayan karın ağrısı ve ateş ile seyredebilir. Peritonit

peristaltizmi azalttığından hastalar diareden çok konstipasyondan şikayet ederler [24,26,27].

Ateş

Ateş, FMF'in en önemli bulgusudur ve vakaların %96' sında görülür. Atak süresince devam ederek kendiliğinden normal değerlere iner. Ateş bazen tek bulgu olarak karşımıza çıkabilir [3, 10, 20,24, 28, 29].

Karın Ağrısı

FMF tanısı ile izlenen hastaların %91' inde peritoneal inflamasyona bağlı olarak karın ağrısı görülür. Ateşten sonra en sık görülen bulgudur [3, 28, 29].

Göğüs Ağrısı

Plörit unilateral ve bilateral göğüs ağrısına neden olup hastaların %25-50'sinde görülür. [19⁵²]. Bu atakların sıklığı çeşitli etnik kökenler arasında farklılık gösterip Türkler ve Ermenilerde non-Ashkenazi Yahudilere göre daha sıktır [30].

Eklem Ağrısı

Eklem bulguları FMF'de 2. en sık karşılaşılan atak şekli olup hastaların %75'inde saptanır. Bu bulgular Kuzey Afrika kökenli Yahudiler'de en sık olup, Irak kökenli Yahudiler'de Ermeni ve Türkler'de olduğu gibi daha düşük sıklıkta görülür [31]. Çocuklarda erişkinlerden daha sık olup hemen her zaman o atakta bir eklem tutulması şeklindedir [10,24].

Cilt

Cilt ile ilgili bulguların sıklığı çeşitli yayınlarda %12 ile %43 arasında saptanmıştır [32, 33]. Bunlar içinde en sık görüleni olan erizipel benzeri eritem FMF'li çocukların %11'inde görülür. Sıcak, ağrılı ve şiş olup 10 ile 35cm²'lik bir alanı kaplar. Çoğunlukla alt ekstremitede ayak bileği ile diz arasında ayak sırtında bulunurlar [20, 24].

Vasculit

Henoch Schönlein Purpurası (HSP), Poliarteritis Nodosa (PAN) gibi vaskülitlerin FMF'li hastalarda ortaya çıkma oranının genel popülasyona göre daha sık olduğu saptanmıştır [22,34].

Kas ağrısı

FMF'de nadir olarak bir veya daha fazla ekstremitayı etkileyen kas ağrıları gözlenir. Ağrı, hassasiyet, fonksiyon kaybı çok şiddetli değildir [6, 8, 24,35].

Diğer Bulgular

Hastalarda nörolojik tutulumla ilgili olarak baş ağrısı, aseptik menenjit görülebilir. Tunika vaginalis inflamasyonuna bağlı olarak %5 hastada testislerde tek taraflı şişlik, ağrı ve kızarıklık ile karakterize akut skrotal tablo gelişebilir. %20-50 hastada hepatosplenomegali bildirilmiştir. Nadiren troid bez tutulumu olabilir [35, 36]. Kadın FMF hastalarında fertilité olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Bunun nedeninin inflamasyona sekonder gelişen pelvik yapışıklıklar veya abdominal ataklar sonucunda gelişen düşükler olduğu sanılmaktadır [37, 38].

1.1.4. LABORATUAR BULGULARI

FMF hastalığı için DNA mutasyon analizi hariç kesin tanı koydurucu bir laboratuvar testi henüz yoktur. Ataklar sırasında sık rastlanılan bulgular sola kayma ile birlikte olan lökositöz, eritrosit sedimentasyon hızındaki artış ve akut faz yanıtındaki artıştır (CRP, Serum amiloid A, fibrinojen, haptoglobulin, C3,C4). Bu bulguların tamamının akut ataklar arasındaki dönemde normal olduğu bildirilmesine karşın son zamanlarda serum amiloid A'nın (SAA) subklinik inflamasyonu saptamada en iyi gösterge olduğu sonucuna varılmıştır [3, 22,39].

Ataklar sırasında geçici albuminüri ve mikroskopik hematüri görülebilmektedir [40]. IL1, IL6 ve TNF atak sırasında hastalarda yüksek

bulunurken, IL-6'nın ataklar arasındaki dönemde de kontrol grubundan yüksek olduğu ve bunun devam eden subklinik inflamasyonun göstergesi olabileceği düşünülmüştür [41]. Atak sırasında eriyebilir IL-2 reseptör (sIL-2R) düzeylerinin arttığı ve FMF'de sIL-2R'in aktivite kriteri olabileceği ileri sürülmüştür. Serozal sıvılarda C5a inhibitör aktivitesinde azalma saptanmıştır [22,42]. FMF'e bağlı gelişen sinovitte sinovyal sıvı oldukça bulanık olup inflamatuvar sıvı özelliğinde görülür ancak viskozitesi korunmuştur ve sterildir [43].

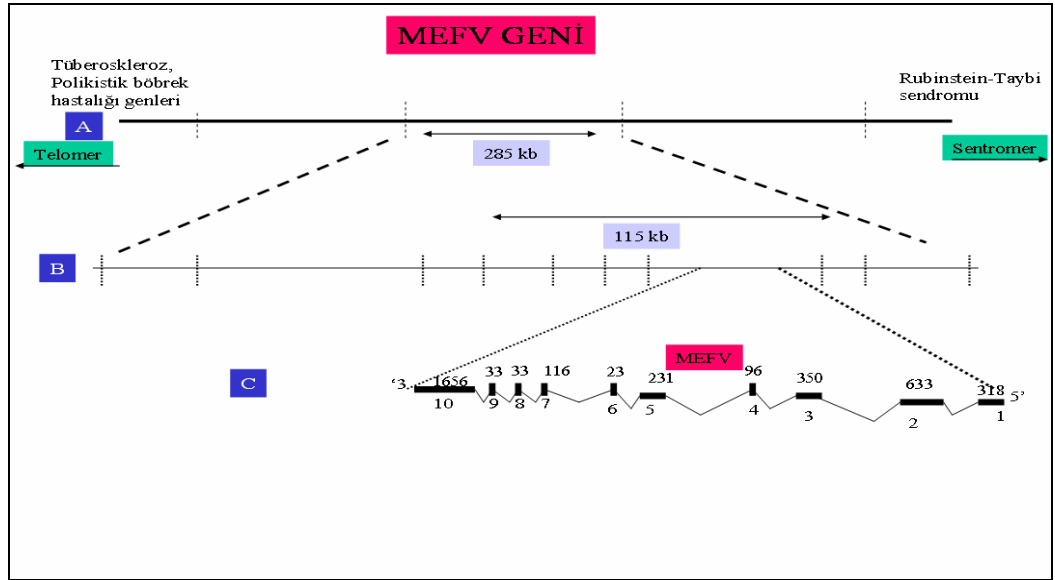
1.1.5. TEDAVİ

Hastalığın tedavisinde kullanılan tek etkili ilaç bitkisel bir alkaloid olan kolşisinidir.[44–46]. İlk kez 1972 yılında Emir ÖZKAN ve Goldfinger tarafından ayrı ayrı bir bitki alkaloidi olan kolşisin tedavide etkin ajan olarak tanımlanmıştır. Arkasından Zemer ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarla kolşisinin FMF ataklarını ve amiloidoz gelişimini önlediğini belirlemişlerdir [22,48].

Colchium, çayır safranının latince adı olup, kolşisin, Karadeniz'in doğu kıyısında eski adı Colchis olan yerde yetişen bu bitkiden elde edilir. Bu bitki, tedavi amacıyla Ortaçağ'da Arap hekimler tarafından eklem ağrılarına ve özellikle de gut hastalığına karşı kullanılıyordu. Ancak zehirli özelliğinden dolayı tedavide kullanılmasından endişe edildiği için kullanımını yaygın değildi. [49, 50].

Kolşisin'in azotu halka dışındadır ve bir asetamid teşkil etmiştir (şekil 1.1). Kolşisin parlak sarı pullar veya toz halindedir. Erime noktası 142-150° C dır. Işığa dayanıksızdır, tropolon halkası ışıpta parçalanarak molekül yapısı bozulur ve renk koyulaşır.

sonucu pozisyonel olarak klonlanmıştır [4,52,53]. *MEFV* (*MEditerranean FeVer*) geni olarak adlandırılan bu gen 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde 10 ekzonluk, 15 kb'lık, 3505 nükleotitten oluşan bir gendir (şekil 1.2) [54] ve 3,7 kb'lık zayıf bir transkript ekspre ederek 781 aminoasitlik bir proteini kodlamaktadır [55,56]. Aynı anda bulunan genin oluşturduğu proteine Fransız grubu "Marenostrin:Akdeniz", diğer grup ise "Pirin:Ateş" ismini vermiştir [54]. Pirin/Marenostrin proteini, granülositler, monositler, dallantılı hücrelerde ve deri, peritonyum ve sinaviyumdan elde edilen fibroblastlarda predominant bir şekilde ekspre edilmektedir [1,57,58].



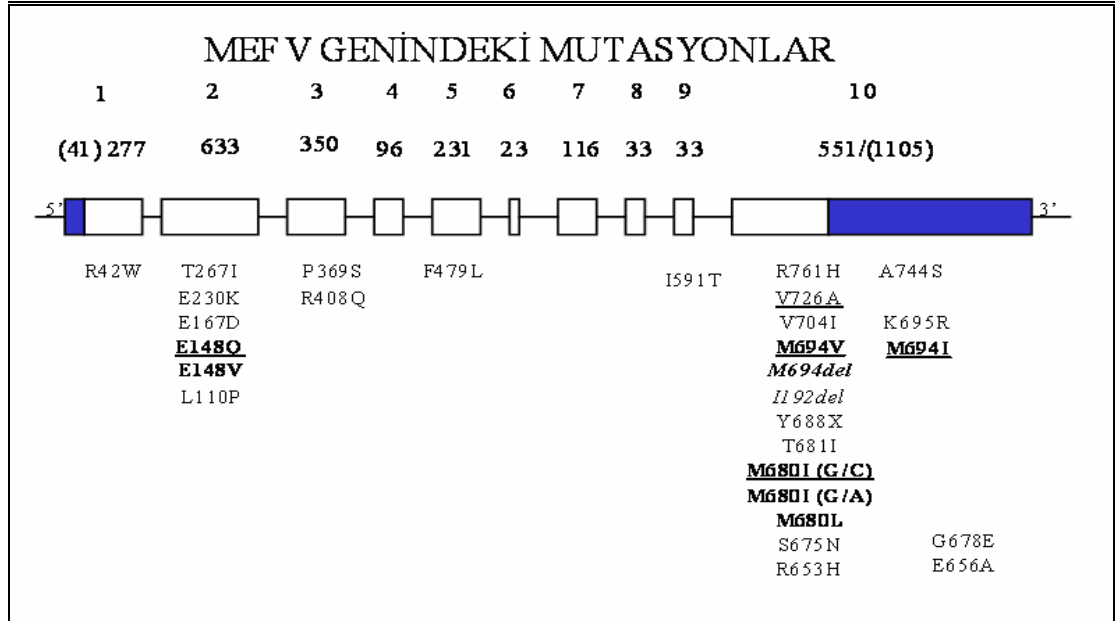
Şekil 1.2: MEFV Geninin Yeri (A: MEFV geninin yeri B: FMF aile çalışmaları ile tespit edilen bölge (285 kb), Askenazi olmayan Yahudilerde yapılan çalışmalarda saptanan bölge (115kb), C: MEFV geninin genomik yapısı [59])

1.1.6.1. MEFV Geninde Mutasyonların Dağılımı

FMF geni (*MEFV*) lokalizyonunun tam olarak belirlenmesi ve klonlanmasından sonra, 1997 yılından itibaren hastalıkla ilgili mutasyonlar tanımlanmaya başlanmıştır. Mutasyon analizlerinde; klonlanan cDNA'da dört yanlış anlamlı mutasyon "Met680Ile; Met694Val; Val726Ala; Met694Ile" tanımlanmıştır

[53]. 1998’de bu dört mutasyona ek olarak, 10. eksonda dört yeni nadir mutasyon (692’de delesyon , Lys695Arg, Ala744Ser, Arg761His); 5.eksonda bir Phe479Leu”; ve 2.eksonda ise üç mutasyon daha (Glu148Gln, Glu167Asp, Thr267Ile) bildirilmiştir [60]. Günümüzde ise bu gende 76’dan fazla farklı mutasyon tanımlanmıştır [21].

Mutasyonlar MEFV geninin 1., 2., 3., 5., 9. ve 10. eksonunda bulunmaktadır (şekil 1.3). MEFV geninin 10. ekzonu mutasyonlar için hassas bir bölgedir. 10.eksondaki M694V, M680I, M694I ve V726A mutasyonları ve 2. eksondaki E148Q mutasyonu taşıyıcı ya da hasta kromozomlardaki FMF mutasyonlarının %85’ini oluşturur [1,60,63,64]. FMF’de en sık görülen 4 mutasyon (missense mutasyon) pirin proteininin karboksi terminal bölgesinde bulunmuştur. FMF vakalarının büyük çoğunluğundan, hangi etnik kökenden olursa olsun, bu mutasyonların sorumlu olduğu tespit edilmiştir [65].



Şekil 1.3 : MEFV Genindeki Mutasyonlar. En sık görülen 5 mutasyon, E148Q, V726A, M694V, M694I ve M680I (G/C)’dir. Sıcak noktalardaki 3 mutasyon E148V, M680I (G/A) ve M680L’dir. Delesyonlar, I192del ve M694del’dir. Bu mutasyonlar arasında Y688X nonsensedir [62]

1.1.6.2. MEFV Mutasyonlarının Fenotipik Etkileri

FMF'li hastalarda yapılan genetik çalışmalar sonucunda; hastalığın fenotipik varyasyonlarının belirli mutasyonların varlığına işaret edeceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. FMF, otozomal resesif geçiş gösteren bir hastalıktır. Buna karşılık nadir olarak otozomal dominant geçiş göstermiş ailelerde bildirilmiştir. Bu dominant geçiş durumunun moleküler temeli;

- FMF tarafından etkilenmiş akraba evliliği (özellikle popülasyonlarda kan bağına yüksek oranı),
- Taşıyıcı oranının yüksek olması,
- Daha şiddetli etkiye neden olan bazı mutasyonların varlığı ile açıklanır.[59].

Hastalığın oluşturduğu iki tip fenotip vardır. Fenotip-1; olguların çoğunu oluşturur. Tipik atak öyküsü vardır. Fenotip-2; daha nadir görülür (ülkemizde % 7-25 arasındadır). Tipik atak öyküsü olmaksızın AA tipi amiloidoz (sekonder amiloidoz) vardır.

Çeşitli etnik gruplardaki FMF hastalarında yapılan ilk çalışmalarda M694V homozigot mutasyonunun olması tam penetrans ve yüksek amiloid riski taşıdığı belirtilmiştir. Mutasyonun homozigot olması, Yahudi ve Ermenilerde hastalığın şiddetli gidişi ile ilişkili bulunmuştur [61,62]. Yalçınkaya ve arkadaşlarının 167 FMF hastasını içeren fenotip-genotip araştırmasında, Türklerde herhangi bir mutasyonu homozigot veya birleşik heterozigot taşımanın hastalığın şiddetini ve amiloidozis gelişimini belirlemediği saptanmıştır [63]. Benzer sonuçlar Booth ve arkadaşları tarafından da yayınlanmıştır [64]. Ayrıca Türklerde yapılan çalışmalarla M694V dışında tüm mutasyonlarda amiloid geliştiği belirtilmiştir [65]. Sonuç olarak amiloidoz bazı mutasyonlarda sık görülmekle birlikte tüm mutasyonlarda da görülme ihtimali vardır [4].

M694I ya da M680I homozigot olan ya da kodon 694 ve 680'de mutasyonların kombinasyonunu taşıyan hastalarda, M694V için homozigot olanların şiddeti gibi hastalık davranışlarına sahip olduğu belirtilmiştir [62,101,102].

Tüzün ve arkadaşları, karın ve göğüs ağrısı, ateş ve artrit gibi şikayetli 110 hasta üzerinde yaptıkları mutasyon-semptom araştırmalarında, periyodik göğüs ağrısı yakınması olan 16 hastanın yapılan mutasyon analizinde Türk toplumunda göreceli olarak daha az görünen M680I mutasyonunun 8 hastada (%50) görüldüğü rapor edilmiştir. Buna ek olarak artrit bulunan 24 hastanın 22'sinde (%91) M694V mutasyonu saptanmıştır [66].

1.1.6.3. MEFV Mutasyonlarının Populasyonlara Göre dağılımı

Nadir görülen mutasyonlar genellikle Avrupalılar gibi FMF'in yaygın olarak görülmediği toplumlarda bulunur. FMF'li hastalar genellikle homozigot veya 2 allelde farklı 2 mutasyon taşıyan birleşik heterozigot olarak görülmektedir. Bazı FMF'li hastalarda aynı kromozom üzerinde farklı iki mutasyon varlığı bildirilmiştir. Akdeniz mutasyonu olarak da bilinen M694V mutasyonu Sefardik Yahudileri, Türkler, Ermeniler ve Araplar arasında saptanmıştır (çizelge 1.1). Bu mutasyonu taşıyan kromozomlar üzerinde yapılan haplotip analizleri göstermiştir ki bu mutasyon belirli bir ırksal bölümde yaklaşık olarak belki de 2000 yıldan fazla zamandan beri mevcuttur [60,103].

Ülkemizden yayınlanan birçok çalışmada Türklerde en sık M694V mutasyonunun görüldüğü gösterilmiştir. Akar ve arkadaşları, FMF tanısı ile izledikleri 230 hastada 7 mutasyona (M694V, M680I, M694I, V726A, E148Q, R761H, K695R) yönelik yaptıkları çalışmada mutasyonların sıklık sırasına göre M694V (%44), M680I (%12), V726A (%11), M694I (%3) olarak belirtilmiştir. E148Q, R761H ve K695R mutasyonları ise az sayıda saptanmıştır [13]. Bakkaloğlu'nun yaptığı bir çalışmada ise M694V %51, M680I %14, V726A %9 oranında saptanmıştır [3,8].

Çizelge 1.1: FMF hastalığından etkilenmiş bazı popülasyonlarda MEFV mutasyonlarındaki dağılımı [59]

Populasyon	M694V %	V726A %	M680I %	M694I %	E148Q %	Diğer Mutasyonlar %	Bilinmeyen Mutasyonlar %
Türkler N=1390	45	11	13	7	2	1	21
Araplar N=706	20	14	7	12	6	3	38
Ermeniler N=378	37	19	21	2	3	2	16
Yahudiler N=1301	65	3	1	0	5	6	20
Kuzey- Afrikalılar N= 1049	71	1	1	0	5	3	19
Ashkenaz N=87	16	38	0	0	8	14	24
Irak N=56	41	21	0	0	12	1	25

1.1.7. PİRİN PROTEİNİ

1997 yılında Fransız FMF Konsorsiyumu ve Uluslararası FMF Konsorsiyumu birbirinden bağımsız olarak yürütülen çalışmalar sonucu, *MEFV* (*MEditerranean FeVer*) geni olarak adlandırmıştır. Bu genin 781 aminoasitlik proteini de Fransız grubu “*Marenostrin:Akdeniz*”, diğer grup ise “*Pirin:Ateş*” ismini vermiştir [3]. Pirin/Marenostrin proteini, nötrofiller, ezinofiller, monositler, dallantılı hücrelerde ve daha az olarak sinoviyal, peritonyum ve deriden elde edilen fibroblastlarda baskın bir şekilde sentezlenmektedir ve pirin, mikrotübüller ve aktin hücre içi iskelet ile birlikte lokalize olmuştur [57,58].

1.1.7.1. Pirin Proteinin Yapı ve Fonksiyonu

Pirin proteini 4 farklı domain içerir; N-terminal ucunda yaklaşık 92 amino asitlik PYD/pirin domaini, C-terminalinde B30.2/rfp/SPYD domaini, PYD ve B30.2 rfp/SPYD domainleri arasında sıkışmış B-box ve CC (coiled-coil) segmentleridir (şekil 1.4)[67].



Şekil 1.4: Pirin Protein Domainleri [79]

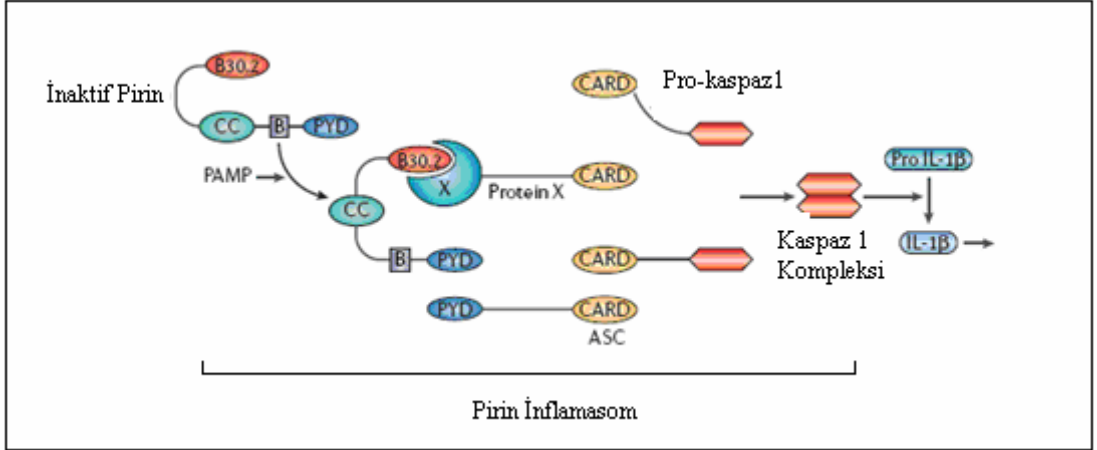
Yapısal olarak pirin, Death Fold süperfamilyasının bir üyesidir ve N-terminalindeki PYD domaini, Death Domain (DD), Death Efektör Domaini (DED) ve Caspase Recruitment Domain (CARD) homoloji gösterir. Bütün bu domainler homotipik protein-protein etkileşimlerine katılır [68-73]. Protein-protein etkileşim domainleri hücre içi sinyal iletiminde önemli rol oynarlar [74]. İnflamasyon ve apoptozis sinyal yolunda, 3 önemli protein grubu DD, DED ve CARD domain taşıyan proteinler önemlidir [75]. Yaklaşık 100 amino asit uzunluğundaki bu domainler spesifik downstream hedeflerin aktivasyonuna yol açan sinyal molekülleri arasında homotipik protein-protein etkileşimine aracılık ederler. Bu domainler arasında DD-DD etkileşimi, DED-DED etkileşimi ve CARD-CARD etkileşimleri, kaspaza benzer reseptörden efektöre sinyallerin düzenlenmesi ve iletilmesi için gereklidir [76].

Dizi benzerliklerinin düşük olmasına rağmen bu homotipik etkileşim domainleri death-domain fold olarak sınıflandırılmışlardır ve inflamasyon ve apoptozisin regülasyonunu kapsayan proteinlerin bir miktarında bulunur [77].

Yabani tip pirin ve mutant pirinin fonksiyonu tam olarak bilinmemesine rağmen FMF'in inflamatuvar fenotipi ve belirli populasyonlardaki yüksek taşıyıcı frekansı, doğal bağışıklığın düzenlenmesinde pirinin önemli bir rol oynadığını gösterir [78]. Yabani tip pirin anti-inflamatuvar olarak düşünülür. Monosit ve nötrofillerin apoptozisine neden olarak inflamasyon yerinde toplanmayı azaltır [7,79].

N-terminalinde bulunan 92 amino asitlik PYD domaini, inflamatuvar ve sitokin ekspresyonu sırasında gen transkripsiyonunda anahtar moleküle bağlanma yeteneğindedir [7]. PYD domaini ASC (*Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*)'ye bağlanarak pirinin pro-interlökin-1 β sitokin (*IL-1 β*) oluşum

sürecini, NF- κ B aktivasyonunu ve apoptozisi regüle etmesini sağlayabilir. Pirin ASC'ye bağlanmak için Kaspaz-1 ile yarışarak pro-IL-1 β sitokinin aktif forma dönüşümü engellenir (şekil 1.5) [68,69,79,81-85]. Pirin *in-vitro* ortamlarda hem inhibitör hem de enhancer olarak görev yaptığı görülmektedir [86].

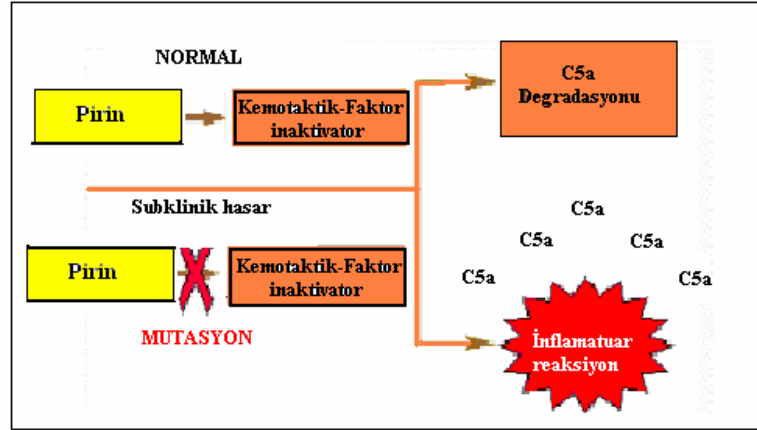


Şekil 1.5: Pirinin inflammasom hipotezi [79]

FMF patogeneğinde, pirinin anti-inflamatuar rolünü açıklamak için bir mekanizma önerilmektedir. Bu mekanizmaya göre, mutant pirin alleli inflamasyon yerlerinde aktif monosit ve nötrofil migrasyonunu sınırlamak için yetenekli değildir ve monositlerin inflammatuar yanıtlarını azaltamaz. Buna karşın inflammatuar moleküllerin sekresyonunu artırır.

Bir başka ve bugün için en kabul gören hipotez, FMF'in peritoneal sıvı ve eklemlerde C5a inhibitör aktivitesinin yetersizliği sonucu oluştuğudur. Bu hipotezi ortaya atan araştırmacılar, granüositler için oldukça güçlü bir kemoatraktan olan C5a'yı inhibe eden inhibitör eksikliğinin akut inflammatuar atağa neden olabileceğini bildirmişlerdir [87]. Sağlıklı kişilerin sinoviyal ve peritoneal sıvıları C5a'nın kemotaktik aktivitesini engelleyen bir inhibitör protein taşırlar. Bu protein normal koşullar altında çeşitli nedenlerle aktive olan C5a'yı inhibe ederek inflamasyonu kontrol etmektedir. Eksikliği durumunda ise seröz zarlarda inflamasyon ortaya çıkar.

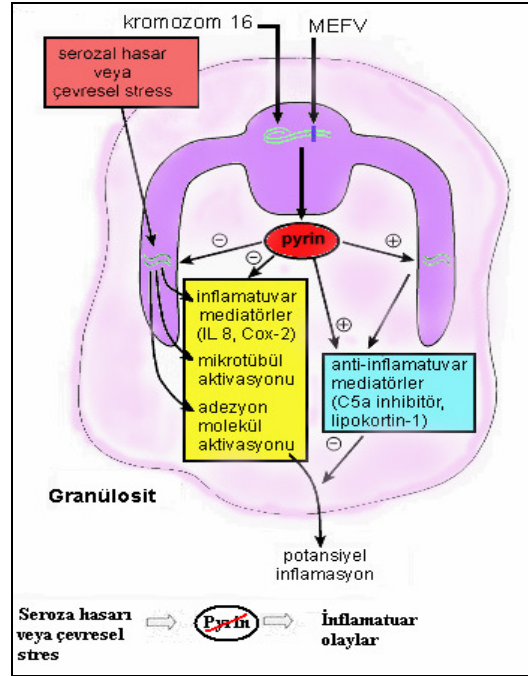
Yapılan çalışmalarda hastaların eklem ve sıvı örneklerinde C5a inhibitör aktivitesi saptanmamıştır (şekil 1.6) [88].



Şekil 1.6: FMF gen ürünü pirin proteini. Kemotaktik-faktör inaktivatörünün biyosentezini aktive ettiği düşünülür. Mutant pirin, inaktivatör üretemez ve FMF ataklarına sebep olur [89].

Kastner ve arkadaşları FMF'in ağır inflamasyonla karakterize bir hastalık oluşu, MEFV geninin yalnızca nötrofillerde eksprese olması ve pirinin hücre çekirdeğine ait olmasından yola çıkarak pirinin fonksiyonunu ve FMF mutasyonlarının etkilerini açıklayıcı varsayıma dayalı bir şema geliştirmişlerdir (şekil 1.7). Bu hipoteze göre pirinin normal işlevi nötrofil kaynaklı inflamasyonun, büyük olasılıkla yine nötrofil düzeyinde baskılanmasıdır. Pirin nötrofillerin pro-inflamatuvar bir molekülünün transkripsiyonel baskılayıcısı veya anti-inflamatuvar bir molekülün arttırıcısı olabilir. Her iki durumda da FMF'in resesif olarak kalıtsal geçiş göstermesi mutasyonların fonksiyon kaybına neden olduğunu düşündürmektedir. Atakların dokuya özgün olması belki de bazı hücre dışı ajanların serozal veya sinovyal membranlara tropizm göstermesi ya da pirinin serozal veya sinovyal vasküler yatakları hedef alan bir yapışma (adezyon) molekülünün ekspresyonuna neden olduğu varsayımı ile açıklanabilir. Pirin FMF hastalarında daha önce eksik olduğu gösterilmiş olan C5a/IL-8 inhibitör faktörünün biyokimyasal tanımına tam

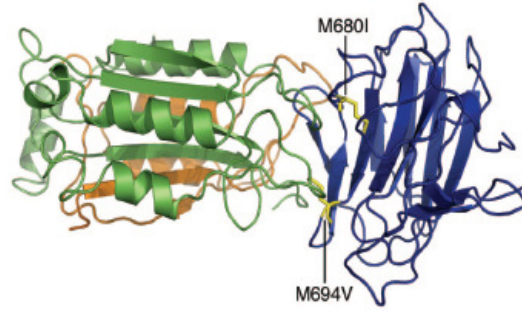
uymamakla birlikte Babior ve Matzner, normal pirinin bu inhibitörün biyosentezini aktive ettiği hipotezini ortaya atmışlardır [22,90]. Bu teori ile serozada meydana gelen subklinik inflamasyon sonrası açığa çıkan kemotaktik faktörleri inhibe edebilecek yeterli inhibitör olmayışı ve böylece MEFV mutasyonlarının FMF ataklarına yol açtığı öne sürülmüştür. Normal koşullarda önemsiz olan bir pro-inflamatuvar uyarı nötrofilleri uyararak C5'den daha fazla C5a oluşumuna neden olabilir ve daha sonra enzimler açığa çıkararak sürekli bir inflamasyon döngüsüne yol açabilir (şekil 1.7). MEFV mutasyonları ve C5a / IL-8 inhibitör eksikliği arasındaki olası ilişkilerin incelenmesi bu teorilerin geçerliliğini gösterecektir [22].



Şekil 1.7: FMF Patofizyolojisi [96]

Çeşitli ekspresyon çalışmalarında FMF hastalarının periferik kan lökositlerinden elde edilen MEFV mRNA'nın asemptomatik periyotlar süresince ekspresyonunun azaldığı ve IL-1 β 'nin yükseldiğini gözlenmiştir [91-93]. Bu bulgular, pirin proteinin bir inhibitör olduğunu ve temel fonksiyonunun inflamasyonun negatif regülatörü olarak rol oynadığını göstermektedir.

Chae ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, IL-1 β aktivasyonunun regülasyonunda pirinin ASC'den bağımsız bir rolünün olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Onlar kaspaz-1 ile birbirini etkileyen B30.2 domainin ve olduğu varsayılan bağlanma alanın ara yüzeyine lokalize olmuş M680I ve M694V mutasyonlu deneklerde bozulmuş interaksyonu kristal bir yapı modeli ile kanıtlamışlardır (şekil 1.8) [91,94].



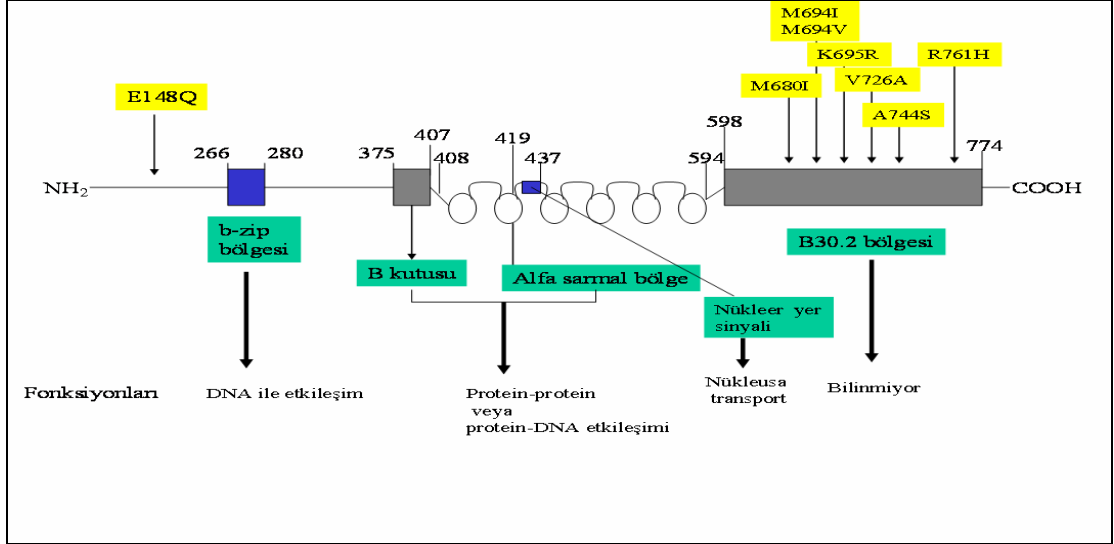
Şekil 1.8: Kaspaz-1 ile pirin etkileşimini gösteren bir model. Pirinin B30.2 domaini (mavi), kaspaz-1'in kristal (p20 yeşil, p10 kahverengi) yapısına girer. FMF'e neden olan 2 yaygın mutasyon, varyasılan bu bağlama ara yüzeyinde lokalize olmuştur [91].

Notarnicola ve arkadaşları, mRNA seviyeleri ve MEFV genotipi arasında bir korelasyonun olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlara göre, M694V mutasyonunun mRNA'nın en düşük seviyeleri ile önemli derecede ilişkili olduğu görülmektedir [95].

1.1.7.2. Pirinin PRYSPRY Domaininde MEFV Mutasyonlarının Lokalizasyonu

Mutasyonlar daha çok MEFV geninin 10. eksonu tarafından kodlanan B30.2/rfp/SPRY domaininde lokalize olmuştur, fakat fonksiyonları henüz tam olarak bilinmiyor (şekil 1.9) [68].

Pirinin PRYSPRY domainin 3-D modeline göre; pirin proteininde bulunan amino asitlerde bulunan birçok mutasyon, MEFV genotipi ve FMF fenotipi arasındaki varsayılan korelasyonu ifade eder. Mutant amino asit pozisyonlarının neredeyse tümü, protein bağlanması ile ilişkili esnek lop bölgelerini etkiler.



Şekil 1.9 : Pirin proteini ve mutasyonların olası bölgeleri [59]

PRYSPRY pirin domaini, β sandviç yapının lop bölgesine haritalanmıştır. Hidrofobik bağlanma oluğu, 637-641aa, 678-686aa, 694-697aa, 702-707aa ve 757-762aa lopları ve β sandviçin bir dış yan bölgesi ile şekillenir. Rapor edilen mutasyonların ikisi (656-720aa) lop (bağlanma) bölgesi üzerindedir ve sadece biri (720aa) moleküler domainin yüzeyine ulaşılabilirliği azaltılmıştır. Model üzerine yerleşmiş 24 mutasyonun 13'ü bağlanma oyuğu ile ilişkilidir (675aa, 678aa, 680aa, 681aa, 688aa, 702aa, 704aa, ve 705aa (sol bölge), 694aa, 695aa, 758aa, 640aa ve 641aa (sağ bölge), 6 tanesi molekülün çıkış yüzeyine lokalize olmuştur (743aa, 744aa, 726aa, 649aa, 653aa ve 656aa) ve 3'ü bağlanma oluğuna göre proteinin karşı tarafına lokalize olduğu görülür (632aa, 646aa ve 649aa) (şekil 1.10) [21].

1.1.8. AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ'ne MEFV GENİ DIŞINDA ETKİ EDEN MOLEKÜLER DEĞİŞİMLER

Modifiye edici genler, hafif etkiye sahip ve hastalığın yaygınlaşması için zorunlu olmayan genetik faktörlerdir. Kompleks allelerde, bir mutasyon diğeri üzerinde modifiye edici bir etkiye sahip olabilir. Son zamanlarda FMF ile ilgili olarak MEFV geninden bağımsız, Major histocompatibility complex class I chain-related gene A (MICA) ve serum amiloid A 1 α/α (SAA 1 α/α) lokusları tanımlanmıştır [97].

1.1.8.1. Major histocompatibility complex class I chain-related gene A (MICA)

MICA geni yüksek bir şekilde polimorfiktir ve fibroblastlar, keratinositler, monositler, endotelyal hücreler ve gastrointesinal epitelyumlar üzerinde ekspre olmaktadır [98]. Fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemesine rağmen MICA genlerinin oksidatif stres proteini ya da sıcak şok (heat shock-HSP70) proteinleri üzerinde etkili olan yüzey molekülü oldukları düşünülmektedir. [99,100].

MICA transmembran ekzon 5 polimorfizmi (GCT/AGC) triplet tekrarları içerir. A4, A5, A6 ve A9 ile ilgili olarak 4, 5, 6 ve 9 tekrarları ve A5.1 ile ilgili olarak 5 triplet ve bir nükleotit insersiyonu (G/C) olmak üzere tanımlanan 5 alleli vardır [98,101-107].

Şimdiye kadar FMF ve MICA arasındaki ilişkiye dikkat çeken çalışmalar oldukça azdır. Touitou ve ark. 2001'de ilk kez FMF'de modifiye edici bir gen bölgesini MICA'da belirlemişlerdir ve MICA A9'un, M694V homozigot olan bireylerde hastalık ataklarının daha erken yaşta ve ciddi etkilere neden olmasını, MICA A4'ün ise atakların sıklığını azalttığını göstermişlerdir [108]. Ayrıca M694V homozigot olan hastalarda MICA A5 allelinin amiloidoz gelişiminde azalan bir etkiye sahip olduğu da belirtilmektedir [98].

1.1.8.2. Serum Amiloid A1 Genotipi

Serum Amiloid A (SAA) inflamasyon sırasında serum seviyesi yükselen akut faz proteindir [101,109]. SAA-1 ve SAA-2 olmak üzere 2 izoformu vardır ve aralarında oldukça homoloji diziler tanımlanmıştır [110]. Amiloid birikiminin esas komponenti olan amiloid A1 ve amiloid A2 proteinleri, Serum Amiloid A1 ve A2 proteinlerinin proteolitik yıkımı ile oluşur.

SAA-1 allelik formları çeşitli popülasyonlarda ve farklı hastalıklarda amiloidoz oranı ile ilişkilidir. SAA-1 α/α genotipi önceden Ermeni FMF hastalarında amiloidozun ortaya çıkması ile ilişkilendirilirken [111], α/α genotipi Kafkas genç kronik artrit hastalarında amiloidoz ile önemli derecede ilgili olduğu rapor edilmiştir [112].

SAA-1 geninin α/α genotipi özellikle M694V homozigot olan hastalarda renal amiloidoz oranının 7 kat artmasına neden olur [111,113]. Bununla birlikte β/β ve β/α SAA-1 genotiplerinin FMF'li hastalarda amiloidoz gelişimi üzerine koruyucu etkileri vardır [111].

1.1.9. GENETİK TANI

Tipik klinik özellikleri taşıyan ve etnik kökeni uygun olan hastalarda tanı genetik doğrulama olmadan da konulabilir ancak atipik klinik bulgularla ortaya çıkıp aile öyküsü bulunmayan ya da etnik kökeni uygun olmayan hastalarda genetik tetkik tanıyı doğrulamak için gerekebilir [3].

Kesin tanı için MEFV geninde her iki alelde de mutasyonun olması gerekmektedir. Ancak günümüzde 76'nın üzerinde mutasyon tanımlanmasına rağmen pek çok merkezde bunlardan yalnızca sık görülenler bakılmaktadır. Dolayısı ile klinik olarak kuvvetle FMF düşünülen hastada bakılabilen bu mutasyonlar bir ya da iki alelde negatif bile olsa tanı kesin kabul edilir ve tedaviye başlanır. Şüpheli kliniği olanlarda her iki alelde mutasyon varlığı ile tedaviye karar verilir.

FMF'li hastaların aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyonların iki allele de taşınabildiği gösterilmiş ve farklı araştırmacılar tarafından farklı öneriler ortaya atılmıştır. Bir grup araştırmacı FMF kliniği ortaya çıkmamış olsa bile özellikle M694V homozigotluğu gibi amiloidozla ilgili olduğu düşünülen durumların tedavisini, diğer bir grup araştırmacı ise tedavisiz izlemine önermektedir. Daha çok kabul gören görüş klinik bulguların ve aile öyküsünün mutasyon analizinden daha önemli olduğu, genetik tanının destekleyici unsur olduğu yönündedir [22].

1.1.10. MEFV GENİNİN DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

1.1.10.1. Behçet Hastalığında MEFV Mutasyonları

FMF ve Behçet Hastalığı (BD) inflamatuvar hastalıklar olup; Ortadoğu ve Akdeniz toplumlarında sık olarak görülürler. Epidemiyolojik olarak aynı bölgelerde görülen bu iki hastalıkta, MEFV mutasyonları incelenmiştir. Sonuçta Behçet hastalarında M694V ve V726A mutasyonlarının normal sağlıklı kontrollere göre daha yüksek oranda buldukları belirlenmiştir. Ayrıca P706 polimorfizminin olası Behçet Hastalarında %18,8 oranında bulunduğu, FMF hastalarında %0, sağlıklı kontrollerde ise % 1,8 oranında bulunduğu belirlenmiştir. P706, olası Behçet Hastalarında 6 kat daha fazla görülmüştür. Bu olasılıkla MEFV mRNA stabilitesinin bozulmasına bağlı olabilir. Ayrıca FMF-BD taşıyan sekiz olguda tek kromozomda MEFV mutasyonunun belirlenmesi, bu bireylerde ekspresyon artışına yol açabileceğinin de göstergesi olarak kabul edilmiştir [113].

1.1.10.2. Amiloidoz ve MEFV Mutasyonları

Amiloid, böbrek, bağırsaklar, deri, kalp gibi bazı organlarda depolanan ve özellikle böbreklerde ilerleyici fonksiyon kaybına neden olan özel bir proteindir. FMF, romatoid artrit, juvenil kronik artrit ve tüberküloz gibi bazı kronik inflamasyon hastalıklarında da iyi tedavi edilmediğinde görülebilir.

FMF'in en ağır komplikasyonu, akut faz reaktantı serum amiloid A' nın (SAA) özellikle böbreklerde depolanması sonucu meydana gelen amiloidozdur. FMF amiloidoz ilişkisi ilk kez 1955'te tanımlanmıştır.

Çeşitli etnik gruplardaki FMF hastalarında yapılan ilk çalışmalarda M694V homozigot mutasyonunun olması tam penetrans ve yüksek amiloid riski taşıdığı belirtilmiştir. Mutasyonun homozigot olması. Yahudi ve Ermenilerde hastalığın şiddetli gidişi ile ilişkili bulunmuştur [61,117,118]. Yalçinkaya ve arkadaşlarının 167 FMF hastasını içeren fenotip-genotip araştırmasında, Türklerde herhangi bir mutasyonu homozigot veya birleşik heterozigot taşımanın hastalığın şiddetini ve amiloidozis gelişimini belirlemediği saptanmıştır [119–121]. Benzer sonuçlar Booth ve arkadaşları tarafından da yayınlanmıştır [64]. Ayrıca Türklerde yapılan çalışmalarla M694V dışında tüm mutasyonlarda amiloid geliştiği belirtilmiştir [118]. Sonuç olarak amiloidoz bazı mutasyonlarda sık görülmekle birlikte tüm mutasyonlarda da görülme ihtimali vardır [4].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda amiloidoz gelişmesinde en önemli faktörlerden bir tanesinin de SAA–1 gen polimorfizmi olduğu gösterilmiştir. SAA–1 α/α genotipli hastalarda artmış amiloidoz riski görülürken, α/α genotipli olmayanlarda bu risk çok düşüktür [122].

FMF'de amiloidoz gelişim prevalansı; atakların süresi, sıklığı ve şiddetinden bağımsızdır. Fenotip II hastalarında ateş ve inflamasyon ataklarından önce amiloidoz gözlenmesi bu görüşü destekleyen bir bulgudur. Kolşisin kullanımından da önce, amiloidozun tüm dünyada bu hastalığın sonucu olarak benzer sıklıkta gözlenmemesi nedeni ile amiloidoz gelişiminin etnik köken, kalıtım ve çevresel faktörlerden etkileniyor olduğunu düşündürmüştür. Örneğin Ashkenazi olmayan Yahudiler (%80) ve Türklerde (%60) daha sık gözlenmektedir. Ancak son çalışmalarda amiloidozun Türk hastalarda %7–13 oranında olduğu saptanmıştır [60].

1.1.10.3. Romatoid Artrit ve MEFV Mutasyonları

Romatoid artrit (RA), başta el ve ayak eklemleri olmak üzere birçok eklemi simetrik olarak etkileyen, eklemlerde ileri derecede şekil bozukluğuna ve hareket kısıtlanmasına yol açan kronik inflamatuvar bir hastalıktır [123].

Romatoid Artrit'de E148Q mutasyonunu taşımak amiloidoz oluşumunu yaklaşık 7 kat; homozigotluk durumu ise 12 kat amiloidoz için bir risk oluşturmaktadır [122].

1.1.12. FMF'li Hastalarda Kardiyovasküler Riskler

FMF atakları, inflamasyonun çeşitli belirteçleri ile ilişkilidir. Bu ilişkiler; klinik olarak etkilenmiş bölgelerde ateş ve ağrının gelişimi, histolojik olarak serozal membranlara polimorfonükleer lökositlerin saldırısı ve serolojik olarak IL-6 ve TNF'nin çözünür reseptörlerinin yükselmiş seviyeleri ile sitokin kaskadının aktivasyonu ve özellikle fibrinojen, CRP, SAA, fosfolipaz A₂ ve akut faz plazma proteinlerinin artan üretimini yansıtır [24,80,124,125]. Yükselmiş serum CRP seviyeleri iskemik stroke ve miyokardiyal enfarktüsün belirteçidir. IL-6 ise ateromatöz plaklar içinde makrofaj ve monositlerin toplanması ile ilişkili bulunmuştur [124].

Kardiyovasküler hastalıklara neden olan genler, dünya çapında hastalık ve ölümün en önemli nedenleridir. Gerçekten inflamasyon, aterosklerozun bir anahtar bileşenidir. Bu yüzden inflamatuvar ya da anti-inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler gelişen ateroskleroz riskini görüntülemek için iyi bir belirteçtirler. Yüksek inflamatuvar molekül üretimini düzenleyen genel gen polimorfizmleri ateroskleroz ile ilişkilidir [125].

Birçok çalışma, ateroskleroza karşı koruyucu bir rol oynayabilen ve uzun yaşama yardımcı olan inflamasyonun pozitif kontrolü ile ilişkili polimorfizmlere dikkat çekmektedir. Bu çalışmalardan birinde, erkek kontroller, akut miyokart

enfarktüsden etkilenmiş hastalar ve 100 yaşını aşmış bireyler arasında proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar genlerin önemli bir dağılımını incelemiştir. Çalışma sonuçları, pirinin proinflamatuvar alleli (A2080G/M694V), anti inflamatuvar IL-10 sitokin (-A108) ve proinflamatuvar TNF- α (-G308A), akut miyokart enfarktüs hastalarında aşırı temsil edilirken, yaşlı bireylerde oldukça az temsil edildiğini göstermektedir. Bununla birlikte yaşa bağlı kontrollerde orta değerinde temsil edilmektedir [126,127].

İnflamasyon, aterosklerozun başlangıcında ve gelişiminde önemli bir faktördür [80,128,129]. CRP, fibrinojen ve SAA gibi akut faz plazma proteinlerinin yükselmiş seviyeleri, vasküler bir riskin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [130].

Sistemik inflamasyon güçlü bir protrombotik uyarandır. İnflamasyon sürecinde prokoagulant faktörler yükselirken doğal antikoagulant ve fibrinolitik aktivite düşer [13,132]. Böylece inflamasyon hemostatik mekanizmaları tromboz lehine değiştirir [13]. Tromboza eğilim gösteren bir kişide yükselen hemostatik sistem hiperkoagülasyon hastalıklarına sebep olur [12]. Koagülasyon anormallikleri FMF hastalarında nadiren görülmektedir [13].

Karotis arter intima-media kalınlığı (IMT) ve genişleyebilirliği yapısal ve fonksiyonel damar duvar özelliklerinin göstergeleridir. Karotis arter IMT yaygın kardiyovasküler hastalıkla ve risk faktörlerinin varlığıyla ilişkilidir. Akdoğan ve arkadaşlarının FMF hastaları üzerinde yaptıkları bir çalışmada karotis arter IMT'yi sağlıklı kontrol bireylerine göre oldukça yüksek bulmuşlardır ve FMF hastalarında aterosklerotik vasküler komplikasyonlar için artan bir risk oluşturabileceğini açıklamışlardır [133]. Langevitz ve arkadaşları ise FMF hastalarında iskemik kalp hastalıklarının prevalansının %15,5 olduğunu belirtmişlerdir [80,133]

FMF, MEFV geninde oluşan mutasyonların sebep olduğu, serozit ve periyodik ateş atakları ile karakterize edilen otoinflamatuvar bir hastalıktır. Proinflamatuvar genotipin, koroner kalp hastalık riskine önemli derecede neden olduğu bilinmektedir. MEFV mutasyonları şiddet ve komplikasyonları ile kardiyovasküler hastalıkları etkileyebilirler [7].

1.2. KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR İLE İLİŞKİLİ GENETİK POLİMORFİZMLER

1.2.1- Faktor V Leiden Mutasyonu

Kan pıhtılaşmasında çok sayıda kofaktör rol oynar. Bu kofaktörler koagülasyon şelalesindeki değişik enzimatik reaksiyonları hızlandırırlar. Faktör V (FV), protrombinaz kompleksinin inşasında Faktör X (FX) ile birlikte kofaktör olarak etki eder [134,135]. Fizyolojik koşullarda prokoagülant ve antikoagülant mekanizmalar bir denge içersinde çalışırlar. Denge bozukluğu durumunda kanama ya da tromboemboliyle kendini gösteren patolojik durumlar oluşur. [136].

FV eksikliği ilk defa 1947’de Owren tarafından rapor edilmiş ve Parahemofili olarak adlandırılmıştır. Daha sonraki yıllarda FV eksikliklerinin tek tip olmadığı anlaşılmış ve günümüzde 6 çeşit genetik sebepli FV eksikliği belirlenmiştir. [137].

FV tek zincirli bir glikoproteindir ve karaciğerde de sentezlenir. Yarılanma ömrü 12-36 saattir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 330.000 daltondur. FV’in %80’i plazmada bulunurken %20’si trombositlerde bulunur. Aktif Faktör V (FVa), Faktör Xa, Ca²⁺ ve fosfolipid beraberce protrombinaz kompleksini oluştururlar. FV’in asıl rolü trombosit yüzeylerinde protrombinaz kompleksi oluşumuna katılmaktır. FVa’nın ağır zincirinde üç tane APC yıkım bölgesi bulunur. Trombin oluşumu Protein C yi aktive eder ve APC FVa i yıkarak pıhtılaşmayı kontrol eder FV eksikliği, otozomal resesif kalıtılan genetik bir hastalıktır. FV azlığında veya yokluğunda trombin ve fibrin oluşumu gecikerek kanama bulgusu gelişir. Homozigotlarda çeşitli kanamalar görülürken heterozigotlar genellikle belirti vermezler [137].

Protein C, karaciğerde üretilen vitamin K’ ya bağımlı bir glikoproteindir. Bu protein koagülasyon sırasında trombomodulin adlı reseptörle etkileşerek FV ve FVIII’in aktif formlarını inhibe eder. Bu inhibisyon antikoagülant etki oluşturur ve koagülasyon sürecini düzenler [134]. 1993’te Dahlback ve arkadaşları tarafından bazı plazma moleküllerinin antikoagülant moleküllere karşı bir resistans gösterdiği bulunmuş ve bu moleküller aktifleşmiş protein-C (APC) olarak tanımlanmıştır [138].

1994'te Bertina ve arkadaşları APC direncinden (APCR) sorumlu olan FV gen bölgesinde bir nokta mutasyonu tanımlamış (G1691A, FVR506Q) ve bu anormal form Faktör V Leiden(FVL) olarak isimlendirilmiştir. FV de oluşan bu mutasyon APC tarafından tanınan major proteolitik kesim bölgesini yok eder ve FV, APC 'ye karşı rezistanslı duruma gelir fakat normal prokoagulant aktiviteye sahiptir [139]. FVL normal FV den 10 kat daha yavaş inaktive olur ve dolaşımında daha uzun süre kalır. Bunun sonucunda protrombin F1+2 fragmanlarında ve diğer aktive koagülasyon markerlarında artış ve koagülasyona yatkınlık durumu ortaya çıkar [140].

FVL mutasyonunun sıklığı normal popülasyonda ortalama %4–6 olarak bildirilmekle birlikte, sağlıklı Türk popülasyonundaki yüzdesi ise %7.1–9.1 olarak bildirilmiştir. Avrupa'nın değişik popülasyonlarında yapılan çalışmalarda %2–15 gibi farklı sıklıklar bildirilmiştir. [136]. Bu mutasyon, genel olarak beyaz ırkta daha yaygın olarak görülürken Asya ve Afrika toplumlarında daha seyrek görülmektedir. FVL, Orta doğuda Araplarda ve Yahudilerde de görülmektedir [141,142].

Faktör V Leiden mutasyonu taşıyan bireylerde venöz tromboz, periferel vasküler hastalıklar, felç, pulmoner embolizm görülme riski artmaktadır. FVL mutasyonu tekrarlayan düşük, ikinci ve üçüncü trimester gebelik kayıpları, preeklampsi, plasental abrusyon, intrauterin gelişme geriliği ile de ilişkili bulunmuştur [140]. Bu nedenle yüksek risk grubunu oluşturan bireylerin taranması oldukça önemlidir. FVL mutasyonu sadece yetişkin dönemde değil çocukluk hatta yenidoğan döneminde de trombozlara sebep olmaktadır. Gürgey ve ark. trombozlu yenidoğanların %31'inde heterozigot FVL mutasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Reiner, Inbal, Wu ve Dönmez' in çalışmalarında miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda FVL mutasyonu kontrol grubundan daha sık bulunmamıştır [143-146], ancak Rosendal ve Segev 50 yaşın altında kalp krizi geçiren kişilerde FVL mutasyonunu sık bulmuşlar ve özellikle sigara içen genç bayanlarda FVL mutasyonu da olduğunda başka risk faktörü olmasa bile kalp krizi riskinin 30 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir [147,148]. Bayra ve arkadaşları serebrovasküler trombozlu hastalarda da FVL mutasyonunu sık bulmuşlar ve riski arttırdığını bildirmişlerdir

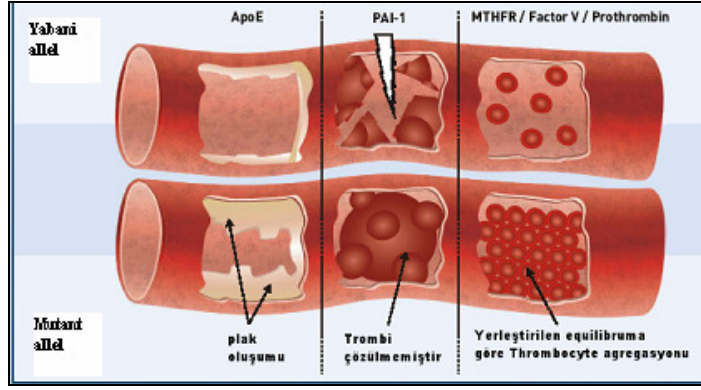
[149]. Bu çalışmalarda saptanan mutasyonlar çoğunlukla heterozigot durumdadır, Heterozigot Factor V Leiden mutasyonunun arteriyel tromboz riskinden çok venöz tromboz riskini arttırdığı göz önünde bulundurulmalıdır.

1.2.2. Protrombin (Faktör II) G20210a Polimorfizmi

Kalıtsal trombofililer arasında ikinci sıklıkta görülen protrombin G20210A gen mutasyonudur. Protrombin K-vitamini bağımlı ve karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir.

1996'da Poort ve ark protrombin geninin 3'-untranslated bölgesindeki guaninin adenine yer değiştirmesine sebep olan "G20210A" polimorfizmini tanımlamışlar ve bunun plazmada artmış PT düzeyleri ve tromboza eğilimle birlikte olduğunu belirtmişlerdir [150]. Protrombin geni 11. kromozomun sentromere yakın kısmında, 21 kb uzunluğunda, 14 ekzon ve 13 introndan oluşmaktadır. Protrombin FXa/Va kompleksi tarafından 271. ve 320. pozisyonlardan kesilir. Böylece katalitik domain olan "trombin" ve plazma protrombin aktivasyonunun bir belirteci olan "protrombin fragman 1.2" oluşur. Trombin fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalizler; FV, VIII, XI, XIII ve trombositleri aktive eder. Ayrıca trombomoduline bağlanarak protein C'yi aktive eder [151].

Protrombin G20210A gen mutasyonu Avrupa ülkelerinde daha sık görülmektedir. Protrombin G20210A gen mutasyonu olanlarda tromboz için relatif risk 2-6 kat artmıştır (şekil 1.11) [152].



Şekil 1.11. : Kardiyovasküler hastalıklara neden olan APOE, PAI-1, FV, MTHFR ve Protrombin'in yabancı ve mutant tiplerinin karşılaştırılması

1.2.3. Faktör XIII Val34Leu Polimorfizmi

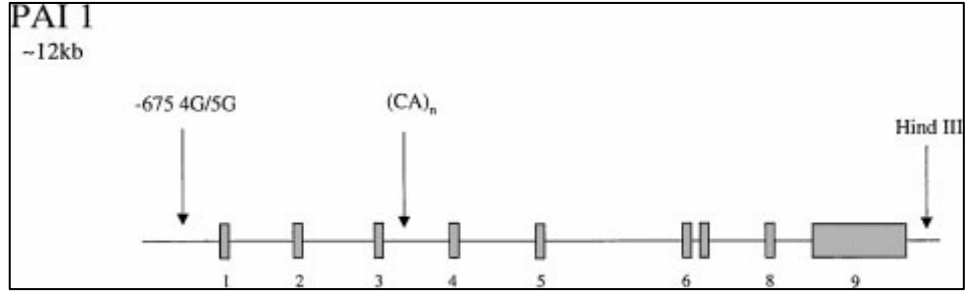
Faktör XIII, fibrin monomerinin γ zincirlerinin birbiriyle bağ oluşturmasını ve fibrin pıhtılarının stabilize olmasını sağlayan trombin tarafından aktive edilen bir proteindir. İki alt birimden oluşmuştur. Trombin FXIII'ün A alt ünitesini 37. amino asitten keser [153,154]. Trombin kesim noktasından 3 amino asit uzaklıkta 34. amino asitte valinin lösine (Val34Leu) substitusyonun da dahil olduğu A alt ünitesinde 20'den fazla mutasyon tanımlanmıştır [153,155]. Bu mutasyon trombin tarafından yükselmiş FXIII aktivasyonu ve artan bağ oluşumu ile ilişkilidir [156]. FXIII eksikliğinde şiddetli kanama söz konusudur. Fakat Val34Leu mutasyonu venöz tromboza karşı koruyucu bir etkiye sahiptir [157].

1.2.4. Beta Fibrinojen -455 G>A Polimorfizmi

Fibrinojen seviyeleri hem genetik faktörler hem de inflamasyon hastalıkları ve akut faz cevabı gibi çevresel faktörler ile kontrol edilmektedir [158]. Yükselmiş fibrinojen seviyeleri miyokart enfarktüs ve felç gibi ateryal hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir [159,160].

1993'te PAI-1 geninin intron 3'UTR'de CA dinükleotit tekrarı ve 4G/5G delesyon insersiyon promoter polimorfizmleri tanımlanmıştır (şekil 1.13) [165]. 4G alleli 5G alleli ile karşılaştırıldığında yükselmiş mRNA transkripsiyonu sergilediği rapor edilmiştir [166]. 4G genotipi PAI-1'in daha yüksek plazma konsantrasyonu ile ilgilidir [153,167].

Plazminojen aktivatör inhibitör geninde promotorda -675. (4G-allel) pozisyonunda guaninin silinmesi, Avrupa popülasyonunda yaklaşık %11 homozigotluk gösterir ve kan PAI-1 konsantrasyonunda yükselmeye neden olur. Homozigot 4G alleli miyokart enfarktüs riskinin yaklaşık iki kat artırılması ile ilişkilidir (şekil 1.11). PAI-1 4G alleli için homozigot olan bireylerde obezite riski üç kat artar. Kardiyovaskülerdeki net artış nedeni ile, PAI-1 4G allellinde homozigot bireyler koroner kalp hastalıklarının modifiye edilebilir risk faktörlerini düzeltmek için her tür önlemi almalıdır. Aşırı kilolu yada obez bireylerde özellikle dikkat edilmelidir [168,169].



Şekil 1.13. PAI-1 geninin organizasyonu [153]

1.2.6. Glikoprotein IIIA PLA1/PLA2 Polimorfizmi

Trombosit yüzeyinde fibrinojen ve Von Willebrand (FVIII) faktörü için bir reseptör görevi yapar ve trombosit kümesinin oluşumunda anahtar bir rol oynar [170]. Böylece pıhtı aktivasyon durumunu düzenler.

İntegrin beta 3 olarak adlandırılan, trombosit ve endotel hücrelerin yüzeyinde bulunan heterodimerik glikoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) kompleksinin bir bileşenidir. Bu bileşik hücre-hücre etkileşmesinde rol oynayan hücre tutucu moleküller için reseptör sınıfına aittir. GpIIIa (HPA-1, PLA) polimorfizmi bu anahtar trombosit proteinlerinde yapısal bir değişimden sorumludur [163,171,172].

Glikoprotein IIIa, 33. aminoasitde yaygın leu/pro polimorfizmi proteinin PLA1/PLA2 olarak adlandırılan allo-antijen sisteminin moleküler temelini oluşturur. Bu polimorfizm, glikoprotein IIIa geninin 1565 pozisyonunda exon 2'de C'den T'ye geçişe neden olur. Avrupa popülasyonunun yaklaşık %25'i glikoprotein IIIa'daki PLA1/PLA2 polimorfizmi için heterozigottur. Sigara içicilerinde, PLA1/PLA2 polimorfizmi için heterozigotluğun miyokart enfarktüs riskini de artırdığı saptanmıştır. Bu nedenle sigara içicisi glikoprotein IIIa'daki PLA1/PLA2 polimorfizmi için heterozigot olanlar, nikotin bırakması için özel çaba göstermelidir [173,174].

GpIIIa L33P erken yaşta akut koroner olaylara, miyokart enfarktüs ve strokeye yakınlıkla ilişkilendirilmektedir [170]. Erkeklerde geniş damar hastalığı felç için bağımsız bir risk faktörüdür [171].

1.2.7. MTHFR C677T Ve A1298C Polimorfizmleri

Vitamine bağlı tek karbon (metil grubu) metabolizmasındaki herhangi bir bozukluk kalp hastalıkları, nöral tüp bozukluğu ve kansere yakalanma riskini etkiler. Bu bozukluklar iki gerekli moleküldeki eksikliklerden kaynaklanmaktadır. Bunlar folat ve cobalamin (B12 vitamini)'dir.

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. İnsan MTHFR geni, kromozom 1p36.3'de lokalize olmuştur ve 656 aminoasitten oluşan MTHFR enzimini kodlar [175]. MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatı (5,10-metilen THF) geriye dönüşümsüz olarak arak 5-metil tetrahidrofolata (5-metil THF) dönüştürür [175-180].

MTHFR enziminin 2 tane düşük fonksiyonlu varyantı vardır. Bunlar 677. nükleotitteki T varyantı (MTHFR C677T) ve 1298. nükleotitteki C varyantı (MTHFR A1298C). 677TT varyantına sahip insanların MTHFR aktivitesi %30, 677TC varyantına sahip insanların MTHFR enzim aktivitesi %65 civarındadır. Toplumun yaklaşık %15 homozigot 677TT varyantına sahiptir. Bu varyant yüksek seviyede homosisteine ve düşük folat seviyesine sebep olur. Bu da vasküler hastalıkların ve nöral tüp defektlerin ortaya çıkma riskini artırır.

Diğer yaygın polimorfizm olan MTHFR A1298C formunda, enzimin aktivitesini, homosistein ve plazma folat konsantrasyonunu etkiler fakat etkisi C677T formundan daha düşüktür. A1298C polimorfizminin, plazma homosistein konsantrasyonundaki artışı MTHFR C677T polimorfizmi kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu polimorfizmin önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır [178,181,182].

Homosistein'in kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde öneminin yanında 1298A>C mutasyonunun da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir [182-184].

A1298C ve C677T mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, C677T mutasyonunun heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür. MTHFR 677T/1298C heterozigot durumunun birlikte bulunduğu bireylerde, nöral tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür [185]. Buna karşılık 677CC/1298AA homozigot normal bireylerde akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi fazla iken, 677CT/1298AC heterozigot bireylerde, akut lösemi gelişiminin daha az görüldüğü bildirilmiştir [186].

677CC/1298CC genotipine sahip bireylerde 677CC/1298AA genotipli bireylere göre plazma total homosisteininde azalma olduğu açıklanmıştır. Tek başına C677T homozigot mutasyonlu (TT) genotipine sahip bireylerde de plazma homosisteini önemli düzeyde artmaktadır. Van der Put ve ark. yaptıkları bir çalışmada, her iki mutasyon bakımından çift heterozigot olan (A1298C/C677T)

bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirtmişlerdir [187]. A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmekte ve bu nedenle A1298C mutasyonlu bireylerde MTHFR enzim aktivitesindeki azalma C677T mutasyonlu bireylerin enzim aktivitesinden daha az olmaktadır. 1298A>C polimorfizminde MTHFR aktivitesinde önemli etkiler görülmesine rağmen ne 1298AC, ne de 1298CC genotipinde artan homosistein düzeylerine rastlanmamıştır [178].

1.2.8. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) *insersiyon/delesyon* Polimorfizmi

Çinko içeren bir enzim olan anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) akciğerlerde, endotelial hücrelerde ve plazmada bulunan bir glikoproteindir. Renin-Anjiotensin sisteminde ACE, Anjiotensin-I'i kuvvetli bir vazokonstrüktör ve aldosteronu stimüle eden bir peptid olan Anjiotensin-II'ye dönüştürür. Anjiotensin-II sentezi yanında aynı zamanda güçlü bir vazodilatatör olan bradikininin yıkarak inaktive eder. Böylece bu enzim iki farklı yoldan kan basıncını yükseltir [188,189].

Renin-anjiotensin sisteminde en sık araştırılan polimorfizm, 17. kromozomda bulunan ACE geninin 16. intronunda *alu* tekrar serisinde 287. baz çiftinin varlığı (insersiyon, I) veya yokluğu (delesyon, D) ile tanımlanan ACE insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmidir [188]. ACE geninde meydana gelen bu insersiyon/delesyon sonucu delesyon/delesyon (DD), insersiyon/insersiyon (II) ve insersiyon/delesyon (ID) olmak üzere 3 genotip oluşur. Hastalıklarda bu üç genotipten biri bulunmaktadır. Sağlıklı kişilerde ACE I ve D alellerinin dağılımları hemen hemen eşittir. Beyaz ırktaki kişilerde bu genotiplerin dağılımı şu şekildedir: %25 II, %50 ID, %25 DD genotipleri [190].

Plazma ACE aktivitesi bir kişide kararlı olmasına rağmen, kişiler arasında oldukça değişiklik gösterir. Bu değişkenlik özellikle ACE'nin genetik polimorfizmi nedeniyle. ACE genindeki ID polimorfizmi serum ACE konsantrasyonlarındaki

değişikliklerin %50'sinden sorumludur [190]. ACE gen polimorfizmi renin-anjiotensin sistemi ile ilgili olan çeşitli hastalıklar ortak özellikleri vasküler endotel hasarının bulunmasıdır. Endotel hasar birçok vasküler hastalığın patogeneğinde yer alır [191]. ACE polimorfizminin DD genotipinin varlığı diyabetik nefropati, hipertansiyon, arteriyel duvar kalınlığı, renal arter hastalıkları, kardiyomiyopatiler, koroner ve karotis ateroskleroza için bir göstergedir. Plazma ACE düzeyleri DD genotipine sahip hastalarda II genotipine sahip olanların yaklaşık iki katı kadardır [192]. Bu nedenle DD genotipinde daha fazla Anjiotensin II oluşur. Bu da Anjiotensin II'ye bağlı doku hasarını artırır. ACE geninin ID polimorfizmi ise yapısal arteriyel değişiklikler ile ilişkilidir [193].

ACE kuvvetli vazokonstriktif etkileri, fibrinolizin azalması, trombosit aktivasyonu ve agregasyonundaki etkileri neticesi tromboembolizme yol açar. ACE konsantrasyonları ile direkt bir fonksiyonel ilişkisi tespit edilememesine rağmen, DD genotipine sahip olanlar en yüksek, II genotipine sahip olanlarda en düşük plazma ACE aktivitesine sahiptirler. ID genotipine sahip olanlarda ise orta dereceli düzeyler görülür. ACE gen polimorfizmi de vasküler tonüste artış, fibrinolizde azalma ve trombosit agregasyonunda artış ile ilişkilidir [194].

1.2.9. APOB R3500Q Polimorfizmi

Kan dolaşımındaki kolesterolün hemen hemen 2/3'si LDL parçaları ile taşınır. LDL'nin reseptör aracılı katabolizması, plazmada LDL kolesterolün konsantrasyonunun önemli bir belirleyicisidir [195,196]. Apo B-100, LDL'nin ana apolipoproteinidir ve LDL reseptörü için ligand görevi yapar [197,198].

Bu güne kadar Apo B100'ün tahmin edilen bağlama domaininde birkaç nokta mutasyonu tanımlanmıştır [199-201]. Fonksiyonel çalışmalarda bu mutasyonlardan üçünün ligand yokluğuna neden olduğu görünmektedir [199,200,202]. İlk bulunan ve çok yaygın olan substitusyon Apo B100 arg 3500 trp'dir [196]. Diğeri ise daha az frekansta görülen Apo B100 arg 3531 cys'dir [200]. İki mutasyon karşılaştırıldığında arg 3531 cys substitusyonunda LDL kolesterolde daha az bir yükselme söz konusudur

[195,202]. Apo B100 arg3500gln mutasyonu LDL reseptörünü bozarak ailesel kusurlu Apo B100 ve hiperlipidemiye neden olur.

Kafkas popülasyonunda arg3500gln mutasyonunun prevalansının %8 olduğu rapor edilmiştir. Güney Asya popülasyonunda ise daha sıktır [171].

1.2.10. APOE Polimorfizmleri

Apolipoprotein, lipid metabolizmasında anahtar bir role sahip glikozlanmış proteindir. Karaciğer, böbrek ve adrenal bezlerde oluşan apolipoproteinler, kandaki lipid bileşenlerin iç kısmını oluştururlar. ApoE düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) den oluşmuştur ve kolesterolün karaciğerden vücut dokularına ulaşmasına arabuluculuk eder. ApoE aynı zamanda lipid metabolizmaya ek olarak çok sayıda fonksiyonu yerine getirir. Hücrel bağışıklık sistemini ayarlar, tromboz agregasyonunu engeller ve steroid sentezini regüle eder. Periferik sinir sisteminde ApoE nöronların büyüme ve farklılaşmasına etki eder. Bunun, nörotoksik amiloid-peptidin ve plak bileşenlerinin parçalanmasının bir sonucu olarak, ApoE, Alzheimer hastalığının patojenlerinde önemli bir role sahiptir [203].

Apolipoprotein E (ApoE) şilomikronlar, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) içeren çeşitli lipoprotein sınıflarının yapısal proteinidir. Bu lipoproteinler dolaşım sisteminde kolesterol ve trigliserit taşınmasında görevlidir. ApoE'nin bu süreçteki fonksiyonu, karaciğer ve diğer organlarda lipoproteinlerin yükseltgenmesine yardımcı olarak reseptör için ligand olarak çalışmaktadır.[203].

Apo E geni, insanda 19. kromozomun uzun kolunda (19q 13.2) lokalize olmuştur ve üç yaygın varyasyonu vardır, sırasıyla apoE2, apoE3 ve apoE4 protein izoformlarını kodlayan apoE-e2, apoE-e3 ve apoE-e4 olarak adlandırılan apoE genleridir. İzofomlar nedeniyle bu polimorfizm 6 Apo E fenotipiyle sonuçlanmaktadır; homozigot E2/2, E3/3, E4/4 ve heterozigot E3/2, E4/2, E4/3. Bu

izoformlar, 112 ve 158 pozisyonlarında farklılık gösterir. ApoE2 112 ve 158 pozisyonlarında sisteine, apoE3 (en yaygın ve yabancı tip) 112 pozisyonunda sisteine ve 158. pozisyonunda arginine, apoE4 112 ve 158 pozisyonlarında arginine taşır [204]. Apo E içeren lipoproteinlerin, lipoprotein reseptörlerine afinitesi Apo E-e2'den Apo E-e3 ve ApoE-e4'e doğru artar. Allel numarası arttıkça (e2,e3 ve e4) Apo E azalır ve plazma kolesterolü, LDL-kolesterol ve Apo B artar [205].

Bütün populasyonlarda apoE-e3 allellinin en yaygın olduğu saptanmıştır. Avrupada, populasyonun %95'i en az bir apoE-e3 allelli, %27'si en az bir apoE-e4 ve %16'sı en az bir apoE-e2 allelli taşır. APO-E-e2 allelli (112 cys/cys; 158 cys/arg) heterozigot taşıyıcıları, APO-E3 homozigotlarına göre daha düşük plazma kolesterolüne sahiptir. Bu nedenle, apoE-e2 allelli taşıyıcılarının ateroskleroz gelişimine karşı korumaya sahip olduğu düşünülür. Bu nedenle bu gibi heterozigotlar tedaviye gereksinim duymazlar [204].

Apo E, Alzheimer hastalığı için de önemli bir genetik risk faktörüdür. Apo e4 allelinin varlığı Alzheimer hastalığı gelişme riski ile ilişkilidir. Yapılan araştırmalara göre Alzheimer hastalığı olan hastaların %34-65'i Apo e4 alleli taşırken, normal populasyonda bu oran %24-31'dir. Bulgulara göre Apo e4 allel sayısı ile hastalık riski doğru, hastalığın ortaya çıkma yaşı ters orantılıdır. Dahası henüz tartışmalı olmakla beraber Apo e2 allelinin de Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkisi olduğuna dair bulgular da mevcuttur [204].

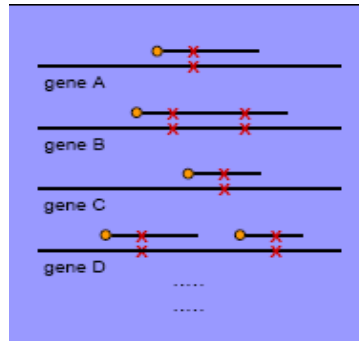
1.3. REVERS HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ

Yukarıda anlatıldığı gibi pek çok hastalığın ve risk faktörlerinin belirlenmesinde mutasyonların tespiti büyük önem taşımaktadır. Özellikle hastalıkların multifaktoriyel pek çok gene dayalı mutasyonlara dayanması, aynı anda pek çok mutasyonların moleküler olarak tespitini gerekli kılmıştır. Bu amaçlı son yıllarda popüler olarak kullanılan yöntemlerden birisi Reverse-Hibridasyon yöntemidir. Bu yöntem, hedef genlerin biyotin işaretli primerler ile çoklu polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında nitroselüloz membranlar (stripler) üzerinde ki

tamamlayıcı problemleri ile hibridizasyonu ve konjugat-substrat reaksiyonu ile bu membranların (stripler) gösterilmesine dayanır.

Reverse-Hibridizasyon Yöntemi 3 aşamadan oluşmaktadır:

- **Genomik DNA'nın İzolasyonu:** Kan, doku, serum gibi vücut sıvı ve doku örneklerinden genomik DNA izole edilir.
- **Çoklu-PCR :** Biotin ile işaretlenmiş primerler kullanılarak aynı anda birden fazla gen bölgesinin çoğaltılmasına olanak sağlar.



Şekil 1.14: Biotin işaretli primerler ile çoklu PCR

- **Membran Üzerine PCR Ürünlerinin Hibridizasyonu (Reverse-Hibridizasyon) :** PCR ürünlerinin membran üzerine paralel emdirilmiş komplementeri olan oligonükleotit problemler ile hibridizasyonunun olduğu aşamadır. Hibridizasyon işlemi 5 basamaktan oluşur;

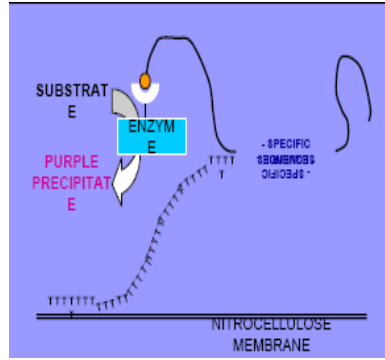
I. Hibridizasyon: PCR ürünleri %1,6 NaOH içeren DNAT solüsyonu ile karıştırılarak denatüre edilirler. Uygun sıcaklıkta (örneğin 45⁰C'de) inkübe edilerek denatüre PCR ürünleri ve strip üzerindeki komplementer oligonükleotit problemlerin hibridizasyonu sağlanır.

II. Sert Yıkama : Hibridizasyondan sonra yüksek sıcaklıkta ortamda bağlanmamış PCR ürünlerinin uzaklaştırılması sağlanır.

III. Konjugat : Streptavedin-peroksidaz yada alkalen fosfataz içeren konjugat solusyonu PCR aşamasında biotin ile işaretlenmiş uçlara bağlanır ve biotin-strepteavidin kompleksleri oluşur.

IV. Yumuşak Yıkama : NaN_3 içeren bir solusyon kullanılarak Biotin-strepteavidin kompleksi oluşturmeyen konjugat ortamdandan uzaklaştırılır.

V. Substrat : NBT ve BCIP içeren substrat ile Konjugat reaksiyona girer. Konjugat substratı katalizler ve membran üzerinde bantlar şeklinde renk oluşumunu sağlar.



Şekil 1.15: Revers hibridizasyon yöntemi

Bu yöntem kullanılarak, mutasyonları, polimorfizmleri, ya da çeşitli hastalıklara neden olan bakteriyolojik, virolojik etkenlerin ya da bunların direnç genleri belirlenebilmektedir. Son zamanlarda birçok kalıtsal hastalığın tanımlanmasında ve polimorfizm çalışmalarında laboratuarlarda rutinde kullanım için tercih edilen güvenilir bir yöntemdir.

Delague ve arkadaşları 100 FMF'li hastada metod karşılaştırma çalışması yapmışlardır. FMF hastalığına sebep olan MEFV genindeki 12 mutasyonu aynı anda belirleyen FMF StripAssay ile floresan cycle sequencing (DNA dizi analizi)'i, belirlilik, hassasiyet ve duyarlılık, kullanılan DNA miktarı ve zaman açısından

karşılaştırmışlardır. Altın standart DNA dizi analizi dikkate alınarak FMF strip assay'in analitik sensitivitesini %96,6 olarak belirlemişlerdir. Test, dizi analizi ile karşılaştırıldığında, çeşitli populasyonlarda en sık görülen mutasyonları aynı anda belirleyebilmesi, hızlı ve kolay kullanımlı olması, analitik sensitivitenin yüksek olması gibi birçok avantaja sahip olduğunu rapor etmişlerdir [206]. Benzer sonuçlar bu yöntem baz alınarak talasemi, çölyak, trombofili, ilaç direçleri, kistik fibrozis, hemokromatozis ve şeker intoleransı gibi kalıtsal hastalıklar için geliştirilmiş testler içinde kanıtlanmıştır [206,207].

Tchernitchko ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, reverse-hibridizasyon yönteminin, MEFV geninin 2, 3, 5 ve 10'uncu ekzonları için DGGE yöntemi (denatüre gradient jel elektroforezi) ile tanımlanmış mutasyonların %99,3'ünü belirlediğini rapor etmişlerdir [208].

1.4.AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklara neden olan genler, dünya çapında hastalık ve ölümün en önemli nedenleridir. Gerçekten inflamasyon, aterosklerozun bir anahtar bileşenidir. FMF, MEFV geninde oluşan mutasyonların sebep olduğu otoinflamatuvar bir hastalıktır. Proinflamatuvar genotipin, koroner kalp hastalık riskine önemli derecede neden olduğu bilinmektedir. MEFV mutasyonları şiddet ve komplikasyonları ile kardiyovasküler hastalıkları etkileyebilirler [7].

Bu nedenle bu çalışmanın amacı;

[I] Türk populasyonunda MEFV genine ait 12 farklı mutasyonun belirlenmesi

[II] MEFV geninde homozigot mutasyon taşıyan bireylerde kardiyovasküler risk teşkil eden 12 farklı polimorfizmin taranması

[III] Sağlıklı bireylerde kardiyovasküler risk teşkil eden 12 farklı polimorfizmin belirlenmesi

[IV] Sağlıklı bireyler ile MEFV geninde homozigot mutasyon taşıyan bireylerde kardiyovasküler mutasyonların ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasıdır.

2. MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1. MATERYAL

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Örnekler

Araştırmada, Mayıs/2006-Mayıs/2007 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Romatoloji ve Nefroloji Polikliniği, Aile Hekimliği ABD, Gastroenteroloji BD, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Romatoloji ve Nefroloji Polikliniği ve çevre hastanelerden FMF ön tanısı ile genetik laboratuvarına sevk edilen, strip assay ile en sık görülen E148Q, P369S, F479L, M680I (G>C), M680I (G>A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S ve R761H olmak üzere toplam 12 mutasyona bakılan, yaş aralıkları 0.4 (5 aylık) ve 62 olan, 212 tanesi kadın, 209 tanesi erkek toplam 421 FMF tanı hasta kullanılmıştır (çizelge 2.1). Bu tarama sonucuna göre farklı polimorfizmler olsada MEFV homozigot genotipteki farklı yaş kategorilerinde 25 tanesi kadın ve 25 tanesi erkek toplam 50 hasta kardiyovasküler risk açısından değerlendirilmek üzere 12 farklı genetik polimorfizm açısından taranmıştır (çizelge 2.1). Kontrol grubu olarak homozigot MEFV polimorfizmi göstermeyen kişiler sağlıklı popülasyondan seçilerek kardiyovasküler polimorfizm açısından taranmıştır. Sağlıklı bireylerin ve FMF hastalarının MEFV genine ait 12 mutasyon açısından hangi mutasyonları taşıdıkları, kan sayım değerleri, biyokimyasal test değerleri belirlidir. Sağlıklı ve FMF hastalarına ait kanlar ve parametre sonuçları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Çizelge 2.1. FMF ve CVD Strip Assay ile çalışılan mutasyonlar

FMF Mutasyonları	Ekson	Nükleotit	Nükleotit Değişimi	CVD Mutasyonları	Amino asit pozisyonu	Amino asit değişimi
E148Q	2	442	G-C	FVR506Q	506	R-Q
P369S	3	543	G-C	FVH1299R	1299	H-R
F479L	5	1413	C-G	PTH G20210A	20210	G-A
M680I	10	2040	G-C	FXIII V34L	34	V-L
M680I	10	2040	G-A	beta Fibrinojen	-455	G-A
I692del	10	2074-2076	AAT del	PAI-1	-675	G del
M694V	10	2080	A-G	HPA-1	33	L-P
M694I	10	2082	G-A	MTHFR	677	C-T
K965R	10	2084	A-G	MTHFR	1298	A-C
V726A	10	2177	T-C	ACE	287	del/ins
A744S	10	2276	G-T	APO B	3500	R-Q
R761H	10	2283	G-A	APO E	112,158	C-R

2.1.2. Çalışmada Kullanılan malzemeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan malzeme ve kitler **Leomed Medikal Ltd.Şti** ve **Elçi Medikal Ltd. Şti.**'nin katkılarıyla Viennalab, Invitek, BD ve Fermentas'dan temin edilmiştir.

Çalışmada Reverse-Hibridizasyon yöntemini baz alan MEFV gen mutasyonlarının belirlenmesi için Viennalab FMF StripAssay Kiti ve Kardiyovasküler risk mutasyonlarını belirlemek için Viennalab CVD StripAssay Kiti olmak üzere 2 ayrı kit kullanıldı. Kitler, izolasyon, PCR ve reverse-hibridizasyon için gerekli tüm solüsyon ve primerleri içermektedir (çizelge 2.2). Fakat izolasyon için Invisorb® Spin Blood Mini Kit kullanıldı.

Çizelge 2.2. FMF ve CVD Strip Assay için PCR ve hibridizasyon solüsyonları

Lysis Solution (50ml)	DNAT (1,5ml)	Conjugate Solution (25ml)
Gen Tract Resin (5ml)	TestStrip (20)	Wash Solution B (80ml)
Amplification Mixi (500µl)	Hybridization Buffer (25ml)	Color Developer (25ml)
Taq Dilution Buffer (500µl)	Wash Solution A (80ml)	Typing Tray (3)

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Çizelge 2.3. Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Kullanılan Gereç	Modeli
Mikro santrifüj	Ependorf
Thermo Mixer	Ependorf
Vortex	Fisons Whirli Mixer
Auto-Lipa	TECAN
PCR Cihazı	ABI
Otomatik pipetler	Pipetman
Steril Pipet Uçları	Sarstedt
Buzdolabı	Vestel, Türkiye

2.2. YÖNTEMLER

2.2.1. Genotip Belirlenmesi

2.2.1.1. Genomik DNA İzolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan bireylerden 1 cc 0,5M Etilendiamintetraasetikasiltili (EDTA) tüp içerisine 2 cc kan örneği alındı.

Kandan genomik DNA'nın izolasyonu için Invisorb® Spin Blood Mini Kit kullanıldı. Periferik kan lökositlerinden standart prosedüre göre DNA izolasyonu yapıldı.

Çalışmaya başlamadan önce örnek sayısına yetecek kadar **Elution Buffer** ependorf tüpüne kondu ve termomikser de 56°C ye kadar ısıtıldı.

1,5 ml'lik ependorf tüpüne 20 µl Proteinaz K, 200 µl kan örneği ve 200 µl lizis Buffer A kondu. Kapağı kapatılarak tüp kısaca vortekslendi. Lizis aşaması için termomikserde 56°C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Tüpe 400 µl Binding Buffer eklendi ve 10 sn vortekslendi. Kısa bir santrifüj yapılarak sıvının tamamı Spin filtreli tüpe aktarıldı. 3 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12 000 rpm de 2 dk santrafüj edildi. Toplama tüpü değiştirilerek, filtre üzerine 500 µl Wash Buffer I eklendi ve 12 000 rpm'de 1 dk santrafüj edildi. Toplama tüpü tekrar değiştirildi, filtre üzerine 800 µl Wash Buffer II eklendi ve 12 000 rpm'de 1 dk santrafüj edildi. Filtre boş toplama tüpüne aktarıldı ve alkolün uzaklaşması için maksimum hızda 4 dk santrafüj edildi.

Filtre temiz 1,5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı ve alkolün tamamen uzaklaşması için 3 dk kapak açık biçimde oda sıcaklığın bekletildi. Filtre membranın tam ortasına önceden ısıtılmış 56C'deki Eluotion Buffer-D'den 200 µl eklendi. 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilerek 10 000 rpm'de 1 dk santrafüj edildi. Filtre atılarak, ependorf içindeki ekstrakt alındı ve -20 °C de saklandı.

2.2.1.2. Çoklu-PCR Amplifikasyonu

Reaksiyonda, MEFV genine ait E148Q, P369S, F479L, M680I (G>C),M680I (G>A),I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S ve R761H mutasyonları için primerleri ve dNTP'leri içeren üretici firma tarafından hazırlanan FMF Amplifikasyon miksi ve FV Leiden, FV H1299R, Protrombin G20210A, F XIII V34L, β-Fibrinojen -455 G-A, PAI-1 4G-5G, GPIIIa L33P, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ACE I/D, APOB R3500Q ve APOE (E₂,E₃,E₄) için primerleri ve dNTP'leri içeren üretici firma tarafından hazırlanan CVD Amplifikasyon miksi A ve CVD Amplifikasyon miksi B kullanıldı.

Her örnek için, PCR toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde aşağıdaki bileşenler ependorf tüp içine koyularak toplu hazırlandı (çizelge 2.4-2.5). Her PCR tüpüne karışımdan 20 µl dağıtıldı. En son 5 µl DNA eklendi. PCR'da kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi.

Çizelge 2.4. Bir hasta için FMF strip assay içeriği

Reaktifler	Miks
FMF Amplifikasyon Miksi	15 µl
Taq Dilüsyon Buffer	4,8 µl
Taq DNA Polimeraz	0,2 µl
Kalıp DNA	5 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	25 µl

Çizelge 2.5. Bir hasta için CVD strip assay içeriği

Reaktifler	Miks A	Miks B
Amplifikasyon Miksi	15 µl	15 µl
Taq Dilüsyon Buffer	4,8 µl	4,8 µl
Taq DNA Polimeraz	0,2 µl	0,2 µl
Kalıp DNA	5 µl	5 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	25 µl	25 µl

PCR tüpüne konan bileşenlerin iyice karışması için çok kısa bir süre (1-2 saniye) santrifüleme yapıldı. Tüpler PCR cihazına yerleştirildi. Viennalab'ın belirlediği PCR protokolüne göre reaksiyon başlatıldı.

Çizelge 2.6. FMF StripAssay ve CVD StripAssay için PCR Protokolü

94 °C	02:00 dakika	} 35 Döngü
94 °C	00:15 saniye	
58 °C	00:30 saniye	
72 °C	00:30 saniye	
72 °C	03:00 dakika	
4 °C	∞	

2.2.1.3. Membran Üzerine PCR Ürünlerinin Hibridizasyonu (Reverse-Hibridizasyon Yöntemi)

Çalışmaya başlamadan önce Hibridizasyon Solüsyonu ve Wash Solüsyon A, autolipanın sıcak bloğu üzerine yerleştirildi ve Autolipa' da Viennalab ürünleri için uygun program seçilerek cihaz 45⁰C'ye kadar ısıtıldı. Diğer solüsyonlar oda sıcaklığında bekletilerek ısıtıldı.

FMF StripAssay çalışılırken her bir strip için 10µl DNAT solüsyonu striplerin yerleştirildiği trayin kuyucuklarının köşelerine pipetlendi. DNAT solüsyonu 10µl PCR ürünü pipetlenerek kuyucukta karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilerek PCR ürünleri denatüre edildi.

CVD StripAssay çalışırken her bir strip için 20µl DNAT solüsyonu striplerin yerleştirildiği trayin kuyucuklarının köşelerine pipetlendi. DNAT solüsyonu 10µl PCR ürünü A ve 10µl PCR ürünü B pipetlenerek kuyucukta karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilerek PCR ürünleri denatüre edildi.

Bundan sonraki aşamalar Autolipa cihazında çalışıldı. Programa göre; Örneklerin konulduğu kuyucuklarına dikkatlice önceden ısıtılmış 45⁰C'de 1 ml hibridizasyon solüsyonu konuldu ve homojen renk elde edilene kadar yavaşça çalkalandı. Stripler mat yüzeyleri üstte olacak şekilde dikkatlice kuyularına yerleştirildi. 45⁰C'de 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi. Hibridizasyon solüsyonu tamamen kuyucuklardan boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 45⁰C'de 1 ml Wash solüsyonu A ilave edilerek 10 saniye inkübe edildi. Kuyucuklardan Wash solüsyon A boşaltıldı. 1 ml wash solüsyonu A tekrar ilave edilerek 15 dakika çalkalamalı inkübe edildi. Tekrar boşaltılarak 1 ml wash solüsyon A ilave edildi. 15 dakika 45 °C'de çalkalanarak hibridize olmayan PCR ürünlerinin tamamen uzaklaştırılması sağlandı.

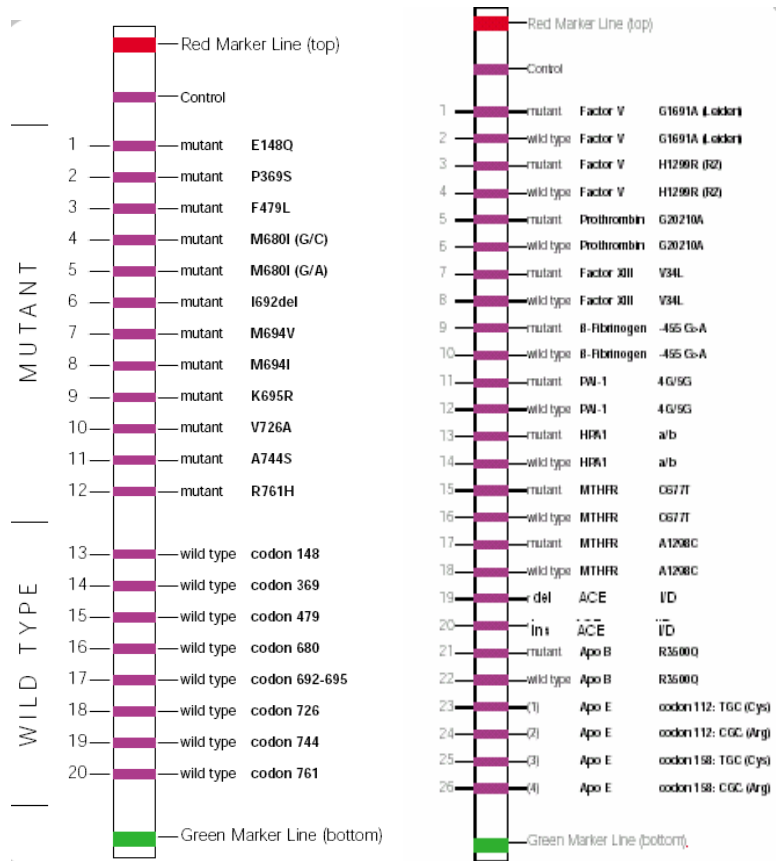
Wash solüsyon A kuyucuklardan tamamen boşaltıldı. Bu aşamadan sonra inkübasyon oda sıcaklığında (26⁰C) devam etti. Her bir kuyucukta ki strip üzerine konjugat solüsyonu eklenerek 15 dakika çalkalanarak inkübe edildi. Konjugat solüsyonu boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 1 ml Wash solüsyonu B ilave edilerek 10

saniye inkübe edildi. Kuyucuklardan Wash solüsyon B boşaltıldı. 1 ml wash solüsyonu B tekrar ilave edilerek 5 dakika çalkalamalı inkübe edildi. Tekrar boşaltılarak 1 ml wash solüsyon B ilave edildi. 5 dakika çalkalanarak konjugat solüsyonunun tamamen uzaklaştırılması sağlandı. Kuyucuklar boşaltı.

Her bir strip üzerine 1 ml color developer solüsyonu eklendi ve karanlıkta oda sıcaklığında bantların oluşması için 15 dakika çalkalanarak inkübe edildi. Color developer ortamdan tamamen uzaklaştırıldı. Üzerinde bantlar oluşan stripler 2 kez distile su ile yıkanarak karanlıkta kurutuldu.

2.2.1.4.1. Sonuçların yorumlanması

Hibridizasyon sonrası, stripler kolektör kağıtlarına yapıştırılarak yorumlandı. En baştaki pozitif reaksiyon kontrol bandı konjugat ve color developer aşamalarının doğruluğunu gösterir. Bu band daima oluşmalıdır. FMF ve CVD stripleri ve strip üzerindeki *mutant tip* ve *wild tipleri* gösteren bandlar şekil 3.1.'de gösterilmiştir. Normal bireylerin genotipleri için sadece *wild (yabani) bandlar*, heterozigot bireyler için hem *wild* hem de *mutant* bandlar, homozigot bireyler için sadece *mutant bandların* pozitif olması gerekmektedir (şekil 3.2 ve şekil 3.3).



Şekil 2.1.: FMF stripassay ve CVD stripassay



Şekil 2.2: Wild ve mutant bandlar

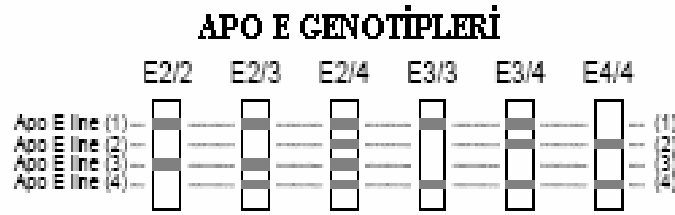
	Wild tip band	Mutant band	Genotip
NOR	Pozitif	Negatif	Normal Birey
HET	Pozitif	Pozitif	Heterozigot Birey
HOM	Negatif	Pozitif	Homozigot Mutant Birey

Şekil 2.3: Revers hibridizasyonda genotiplendirme

Tüm polimorfizmlerin yorumlanması yukarıda bahsedildiği gibidir. Yalnız ApoE nin yorumlanması farklıdır. CVD stripleri üzerinde 23, 24, 25 ve 26. bandları oluşturan APO-E bireysel izoformlar 6 Apo E genotipiyle sonuçlanmaktadır; (şekil 3.4) homozigot E2/2, E3/3, E4/4 ve heterozigot E3/2, E4/2, E4/3. Bu izoformlar, 112. ve 158. pozisyonlarında farklılık gösterir.

ApoE2 112 ve 158 pozisyonlarında sisteine, apoE3 (en yaygın ve wild tip) 112 pozisyonunda sisteine ve 158. pozisyonunda arginine, apoE4 112 ve 158 pozisyonlarında arginine dönüşür (şekil 3.4).

E2 (112: Cys, 158: Cys)	Bandlar (1) + (3)
E3 (112: Cys, 158: Arg)	Bandlar (1) + (4)
E4 (112: Arg, 158: Arg)	Bandlar (2) + (4)



Şekil 2.4: Bireysel izoformların kombinasyonu ile ortaya çıkan 6 APO-E genotipi

3.2.2. Biyokimyasal Parametre Değerlerinin Belirlenmesi

Araştırmada, kullanılan sağlıklı ve FMF'li bireylere ait kanların kan sayım değerleri ve biyokimyasal parametre sonuçları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

FMF hastalarının ve sağlıklı bireylerin kan sayım değerleri Cell Dyn 3700 (Abbott) kan sayım cihazında, biyokimyasal parametreleri Aeroset 1 (Abbott) otoanalizör sisteminde, FMF hastalarına ait fibrinojen değerleri BCS (Dade Behring) koagülametrede, sedim değerleri Alifax sedimentasyon cihazında, sağlıklı bireylere ait apolipoprotein değerleri BN ProSpec (Dade Behring) neflometrede ölçülmüştür.

3.2.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, ortalama standart sapma MİNİTAB versiyon ...10 programı yardımıyla yapılmıştır. Kontrol ve sağlıklı bireyler arasında karşılaştırmalar ANOVA testi ile değerlendirilmiştir.

3.BULGULAR

3.1. FMF Ön Tanılı Hastaların MEFV Mutasyonlarının ve Genotiplerinin Belirlenmesi

Çalışmamızda kullandığımız, FMF ön tanılı hastalara ait mutasyon sonuçları ve DNA örnekleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'ndan temin edildi. FMF ön tanısı ile genetik laboratuvarına gönderilen, yaş aralıkları 0.4 (5 aylık) ve 62 olan 212'si kadın, 209'u erkek toplam 421 FMF ön tanılı hastanın FMF StripAssay ile MEFV geninde en sık görülen E148Q, P369S, F479L, M680I (G>C), M680I (G>A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S ve R761H olmak üzere toplam 12 mutasyon açısından genotip, yaş ve cinsiyet dağılımları tablo 3.1.'de gösterildi.

3.1.1. Türk populasyonunda FMF mutasyonunun dağılımı

Çalışma grubumuzdaki FMF ön tanılı 421 hastanın 170'inde FMF mutasyonları belirlenmiştir. FMF mutasyonunu homozigot taşıyan birey sayısı 50 (%11,9), heterozigot taşıyan birey sayısı 81 (%19,2), birleşik heterozigot taşıyan birey sayısı ise 39 (%9,3)'dur. İncelenen 12 mutasyonun herhangi birini taşımayan bireylerin sayısı ise 251 (%59,6)'dir. FMF ön tanılı hastaların cinsiyete göre mutasyon dağılımları tablo 3.2'de özetlenmiştir. Araştırılan 12 mutasyon arasında *I692del* ve *M680I G>A* mutasyonlarına çalışma grubumuzda rastlanılmamıştır.

Belirlenen mutasyonlar M694V %54, M680I G>C %17,6, E148Q %17,6, A744S %5,29 ve V726A %11,76, P369S %2,35, F479L %1,17, M694I %1,76, K695R %5,29 ve R761H %3,52 oranındadır. Çalışmamızda homozigotların oranı %11,9 olup bu bireyler arasında homozigot olan mutasyonların dağılımı ise M964V %78, M680I G>C %10, E148Q %8, A744S %2 ve V726A %2 olarak belirlenmiştir (tablo 3.3.). Çalışmamızda MEFV mutasyonlarını birleşik heterozigot olarak

taşıyan bireylerde tespit edilmiştir. Bu bireyler arasında mutasyonların dağılımı ise; M964V/V726 %25,65, M694V/K695R %2,56, M694V/M680I G>C % 20,51, M694V/M694I % 2,56, M694V/A744S %5,13, M694V/R761H %2,56, M694V/E148Q %10,26, E148Q/ R761H %2,56, E148Q/P369S %2,56, E148Q/V726A %2,56. E148Q/M694I %2,56, E148Q/M680I G>C %7,69, M680I G>C/ F479L %2,56, M680I G>C/V726A %7,69, F479L/V726A %2,56 olarak belirlenmiştir (tablo3.4).

Çizelge 3.1. : FMF tanımlı hastaların yaş,cinsiyet ve mutasyon dağılımları. K ‘kadın’, E ‘erkek’, N ‘normal allel’. Ulaşılamayan bilgi ‘*’ ile belirtilmiştir

Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon	Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Mutasyon				
1	K	*	N/N	50	E	8	N/N	99	K	*	N/N	148	E	16	N/N	197	E	*	N/N	246	K	24	M694V/ N	295	K	*	N/N	344	K	*	N/N	393	K	*	N/N
2	K	*	M680I [G>C]/N	51	K	*	R761 H/N	100	K	*	M694V/ M680I	149	E	*	N/N	198	E	6	M694V/ M680I	247	K	37	N/N	296	K	10	N/N	345	K	*	N/N	394	E	*	N/N
3	K	*	N/N	52	E	*	N/N	101	E	*	N/N	150	E	*	N/N	199	K	*	N/N	248	E	5	N/N	297	E	57	K695R/ N	346	E	*	N/N	395	E	*	M680I/ V726A
4	K	9	M694V/M 694V	53	E	10	N/N	102	E	29	N/N	151	E	*	N/N	200	E	*	N/N	249	E	2	A744S/ N	298	K	34	M680I [G>C]/N	347	K	*	M694V/ N	396	K	*	M680I [G>C]/N
5	K	*	N/N	54	K	*	M694 V/M6 94I	103	K	27	M694V/ N	152	K	*	M680I [G>C]/ N	201	E	*	N/N	250	E	43	N/N	299	K	*	N/N	348	E	*	N/N	397	K	4	E148Q/ E148Q
6	K	*	E148Q- P369S	55	K	*	N/N	104	K	*	N/N	153	K	*	N/N	202	K	*	N/N	251	K	0.4 1	N/N	300	E	*	N/N	349	K	*	M694V/ N	398	E	*	N/N
7	E	*	N/N	56	E	*	N/N	105	E	*	M694V/ N	154	E	*	N/N	203	E	*	N/N	252	E	1.5	N/N	301	K	50	M680I [G>C]/ M680I [G>C]	350	K	*	N/N	399	K	*	N/N
8	K	*	P369S/N	57	K	*	N/N	106	K	*	N/N	155	K	*	N/N	204	K	12	M694V/ N	253	K	*	E148Q/ N	302	E	*	M694V/ V726A	351	K	*	M680I [G>C]/ M680I [G>C]	400	E	*	N/N
9	E	13	M694V/N	58	E	*	M694 V/A7 44S	107	E	*	N/N	156	E	*	N/N	205	K	*	E148Q/ N	254	K	*	N/N	303	K	*	N/N	352	K	15	M694V/ M694V	401	K	*	M694V/ M694V
10	E	20	N/N	59	K	*	N/N	108	K	*	N/N	157	E	*	N/N	206	K	*	E148Q/ N	255	E	*	A744S/ N	304	E	9	E148Q/ N	353	K	*	N/N	402	K	*	N/N
11	K	*	E148Q/N	60	K	*	M694 V/N	109	E	*	N/N	158	K	*	N/N	207	E	*	N/N	256	K	10	M694V/ M694V	305	K	46	K695R/ N	354	K	*	M680I [G>C]/N	403	E	*	N/N
12	E	*	R761H/N	61	K	9	M694 V/M6 94V	110	E	*	N/N	159	E	*	A744S/ N	208	E	*	N/N	257	K	*	N/N	306	K	10	N/N	355	K	*	N/N	404	K	*	N/N
13	E	41	N/N	62	K	*	N/N	111	E	*	M694V/ M694V	160	E	11	N/N	209	E	*	N/N	258	K	*	M694V/ N	307	E	*	M694V/ M680I	356	E	15	M694V/ M694V	405	E	*	N/N
14	K	19	M694V/V 726A	63	E	39	M694 V/M6 94V	112	K	*	M694V/ N	161	K	47	N/N	210	E	*	N/N	259	K	2.1 6	N/N	308	E	10	E148Q/ N	357	K	*	N/N	406	K	*	N/N
15	E	11	R761H/N	64	E	3	N/N	113	E	*	N/N	162	K	*	N/N	211	K	*	N/N	260	E	43	N/N	309	K	4.5	E148Q/ M694I	358	E	*	M694I/ N	407	E	*	V726A/ N

Çizelge 3.1. Devamı

16	E	12	N/N	65	K	35	N/N	114	E	13	M680I [G>C]/ M680I [G>C]	163	K	*	E148Q/ V726A	212	E	*	N/N	261	K	*	N/N	310	E	44	E148Q/ N	359	K	*	N/N	408	E	*	N/N
17	E	23	N/N	66	E	3	E148 Q/E1 48Q	115	E	*	N/N	164	K	*	N/N	213	E	*	N/N	262	K	*	N/N	311	K	16	N/N	360	E	*	N/N	409	K	*	M694V/ N
18	K	*	N/N	67	E	*	N/N	116	K	*	N/N	165	K	*	N/N	214	E	15	N/N	263	K	*	M694V/ N	312	E	10	N/N	361	K	*	N/N	410	E	*	N/N
19	K	*	M694V/M 694V	68	E	*	M694 V/V7 26A	117	E	34	M694V/ M694V	166	E	4	N/N	215	E	19	N/N	264	K	*	M694V/ N	313	E	*	N/N	362	K	*	N/N	411	E	*	N/N
20	K	*	N/N	69	E	*	M694 V/M6 80I	118	E	*	N/N	167	E	24	N/N	216	K	*	K695R/ N	265	E	4	M694V/ N	314	E	*	E148Q/ N	363	K	*	M694V/ N	412	E	*	N/N
21	E	1.7 5	M694V/N	70	E	*	K695 R/N	119	K	*	N/N	168	K	1.7 5	N/N	217	E	7	N/N	266	E	1.1 6	M694V/ A744S	315	K	*	N/N	364	K	*	N/N	413	E	*	M694V/ M694V
22	K	*	M694V/N	71	E	*	M694 V/M6 94V	120	K	*	M694V/ M680I	169	E	21	N/N	218	K	30	N/N	267	E	12	P369S/ N	316	K	*	N/N	365	E	*	N/N	414	E	*	E148Q/ N
23	K	*	N/N	72	E	*	N/N	121	E	*	N/N	170	E	13	M694V/ N	219	E	35	N/N	268	E	4	N/N	317	K	*	N/N	366	K	*	N/N	415	E	*	N/N
24	E	*	M694V/K 695R	73	E	*	N/N	122	E	2.1 6	N/N	171	E	34	E148Q/ N	220	K	*	N/N	269	K	*	N/N	318	E	*	N/N	367	E	*	N/N	416	E	*	M694V/ M694V
25	K	8	M694V/M 694V	74	E	*	M694 V/V7 26A	123	K	*	M680I [G>C]/N	172	E	2.1 6	N/N	221	E	*	N/N	270	K	*	N/N	319	K	*	N/N	368	E	*	N/N	417	E	*	N/N
26	K	10	N/N	75	E	*	M694 V/V7 26A	124	E	*	M680I [G>C]/N	173	E	3	N/N	222	K	*	N/N	271	K	*	N/N	320	K	*	N/N	369	E	*	A744S/ A744S	418	E	*	N/N
27	K	8	N/N	76	E	*	N/N	125	K	*	F479L/ M680I	174	E	9	M694V/ M694V	223	E	*	N/N	272	E	*	N/N	321	K	*	M694V/ N	370	E	15	M694V/ M694V	419	K	*	N/N
28	K	*	M694V/M 694V	77	K	*	N/N	126	K	*	M694V/ N	175	K	9	N/N	224	E	*	N/N	273	E	25	N/N	322	E	*	N/N	371	E	*	N/N	420	K	*	N/N
29	K	3	N/N	78	K	11	M694 V/M6 94V	127	E	*	M694V/ V726A	176	K	10	N/N	225	K	*	M694V/ N	274	K	13	K695R/ N	323	E	*	N/N	372	E	*	E148Q/ M694V	421	E	35	M694V/ M694V
30	K	3	N/N	79	E	62	N/N	128	K	12	M694V/ M694V	177	E	*	N/N	226	K	*	N/N	275	K	8	N/N	324	E	5	M694V/ M694V	373	K	*	M694V/ N				
31	E	14	E148Q/M6 94V	80	K	10	M694 V/M6 94V	129	E	*	N/N	178	K	27	M680I [G>C]/ M680I [G>C]	227	E	*	N/N	276	K	10	M694V/ V726A	325	K	*	N/N	374	E	*	N/N				
32	E	3	M694V/V 726A	81	E	*	N/N	130	E	*	N/N	179	K	7	M694V/ V726A	228	E	26	A744S/ N	277	K	*	E148Q/ N	326	K	*	M694V/ R761H	375	E	26	M694V/ M694V				

Çizelge 3.1. Devamı

33	K	46	M680I [G>C]/N	82	K	*	N/N	131	K	9	M680I [G>C]/N	180	E	12	V726A/ N	229	K	4	M694V/ N	278	E	21	M694V/ M694V	327	K	*	A744S/ N	376	K	*	N/N
34	K	13	N/N	83	E	12	M694 V/M6 94V	132	K	13	E148Q/ M694V	181	K	15	K695R/ N	230	K	11	N/N	279	K	1.1 6	N/N	328	K	*	N/N	377	K	*	E148Q/ R761H
35	E	*	M694V/M 680I	84	E	*	N/N	133	K	*	N/N	182	E	*	F479L/ V726A	231	E	9	M694V/ M680I	280	K	4	E148Q/ N	329	E	*	N/N	378	K	*	N/N
36	E	*	M694V/N	85	E	*	N/N	134	K	14	M694V/ M694V	183	K	50	K695R/ N	232	E	8	N/N	281	K	40	E148Q/ E148Q	330	E	*	N/N	379	K	7	M694V/ M694V
37	K	*	N/N	86	E	*	E148 Q/N	135	K	*	N/N	184	K	10	E148Q/ N	233	K	5	N/N	282	E	7	E148Q/ N	331	E	*	N/N	380	E	*	N/N
38	K	*	M694V/N	87	E	*	M694 V/M6 94V	136	E	*	N/N	185	K	*	N/N	234	K	17	N/N	283	E	*	E148Q/ N	332	E	*	N/N	381	K	*	P369S/N
39	E	*	N/N	88	E	*	N/N	137	K	28	N/N	186	K	*	N/N	235	E	13	N/N	284	E	9	M680I [G>C]/ M680I [G>C]	333	K	*	M680I/V 726A	382	K	6	M694V/ M694V
40	E	29	M694V/M 694V	89	E	28	M694 V/M6 94V	138	E	11	N/N	187	E	*	N/N	236	E	7	M694V/ M694V	285	K	*	N/N	334	E	*	N/N	383	K	*	N/N
41	K	*	M694V/M 694V	90	K	*	E148 Q/M6 80I	139	E	7	N/N	188	K	47	V726A/ N	237	E	17	V726A/ N	286	E	38	N/N	335	E	*	N/N	384	E	*	N/N
42	K	*	N/N	91	K	*	N/N	140	K	43	N/N	189	E	*	E148Q/ N	238	K	30	N/N	287	K	20	N/N	336	K	*	N/N	385	E	*	N/N
43	E	*	N/N	92	E	50	M694 V/M6 80I	141	E	*	N/N	190	K	*	M694V/ M694V	239	E	6	N/N	288	E	14	N/N	337	K	12	V726A/ V726A	386	E	*	N/N
44	K	*	N/N	93	E	*	M694 V/M6 94V	142	E	*	N/N	191	E	*	E148Q/ N	240	E	7	N/N	289	E	51	K695R/ N	338	K	*	R761H/ N	387	K	*	N/N
45	E	9	N/N	94	K	20	N/N	143	E	*	N/N	192	K	*	N/N	241	K	7	N/N	290	K	41	N/N	339	E	*	E148Q/ M680I	388	E	*	E148Q/ M694V
46	K	*	N/N	95	K	*	N/N	144	K	*	M694V/ V726A	193	K	43	N/N	242	K	9	N/N	291	K	45	N/N	340	E	*	E148Q/ M680I	389	K	*	N/N
47	K	*	N/N	96	E	*	N/N	145	E	23	N/N	194	K	16	M680I [G>C]/ N	243	E	13	N/N	292	K	27	M680I/ V726A	341	E	*	N/N	390	K	*	M694V/ M694V
48	K	*	A744S/N	97	E	*	E148 Q/E1 48Q	146	E	35	N/N	195	E	7	N/N	244	K	10	N/N	293	K	*	N/N	342	K	7	M694V/ M694V	391	K	*	N/N
49	E	*	N/N	98	E	*	M694 V/M6 94V	147	K	49	N/N	196	K	*	N/N	245	E	8	M694V/ N	294	K	*	E148Q/ N	343	E	*	N/N	392	K	*	M694V/ M694V

Çizelge 3.2.:Türk populasyonunda FMF mutasyonlarının cinsiyete göre dağılımı. (Normal allel 'N' ile belirtilmiştir.)

Cinsiyet	Kadın		Erkek		Total %
	n	%	N	%	
Mutasyon					
M694V/ M694V	20	9.4	19	9.1	9.26
M694V/N	19	9.0	7	3.3	6.18
M680I G>C /M680I G>C	3	1.4	2	1.0	1.19
M680I G>C/N	9	4.2	1	0.5	2.38
E148Q/E148Q	2	0.9	2	1.0	0.95
E148Q/N	8	3.8	11	5.3	4.51
A744S/ A744S	0	0.0	1	0.5	0.24
A744S/N	2	0.9	4	1.9	1.43
V726A/ V726A	1	0.5	0	0.0	0.24
V726A/N	1	0.5	3	1.4	0.95
K695R/N	5	2.4	3	1.4	1.90
R761/N	2	0.9	2	1.0	0.95
P369S/N	2	0.9	1	0.5	0.71
M694I/N	0	0.0	1	0.5	0.24
N/N	121	57.1	130	62.2	59.62

Çizelge 3.3.: MEFV mutasyonlarını homozigot taşıyan hastaların dağılımı

Mutasyonlar	Birey Sayısı (n)	%
M694V/ M694V	39	78
M680I G>C/ M680I G>C	5	10
E148Q/E148Q	4	8
A744S/A744S	1	2
V726A/ V726A	1	2

Çizelge 3.4. MEFV mutasyonlarını birleşik heterozigot olarak taşıyan bireylerin cinsiyete göre dağılımları

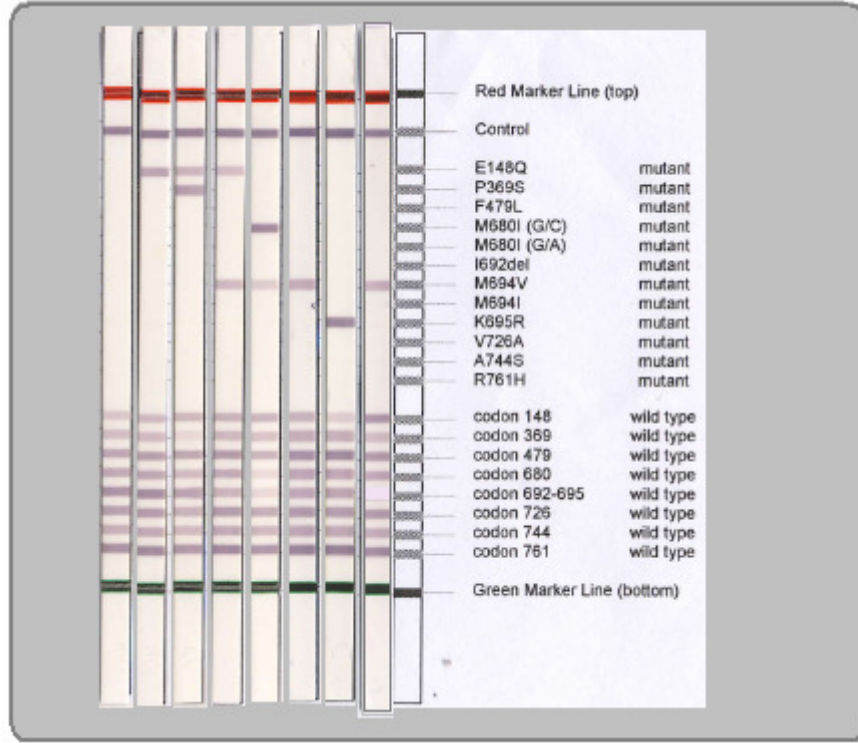
Cinsiyet Mutasyon	Kadın		Erkek		Total %
	n	%	N	%	
M694V/V726A	4	1.9	6	2.9	2.38
M694V/K695R	0	0	1	0.5	0.24
M694V/M680I G>C	2	0.9	6	2.9	1.9
M694V/M694I	1	0.5	0	0	0.24
M694V/A744S	0	0	2	1	0.48
M694V/R761H	1	0.5	0	0	0.24
M694V/E148Q	1	0.5	3	1.4	0.95
E148Q/R761H	1	0.5	0	0	0.24
E148Q/P369S	1	0.5	0	0	0.24
E148Q/V726A	1	0.5	0	0	0.24
E148Q/M694I	1	0.5	0	0	0.24
E148Q/M680I G>C	1	0.5	2	1	0.71
M680I G>C/F479L	1	0.5	0	0	0.24
M680I G>C/V726A	2	0.9	1	0.5	0.71
F479/V726A	0	0	1	0.5	0.24

3.2. Kontrol Bireyleri ve FMF Hastalarının Karşılaştırılması

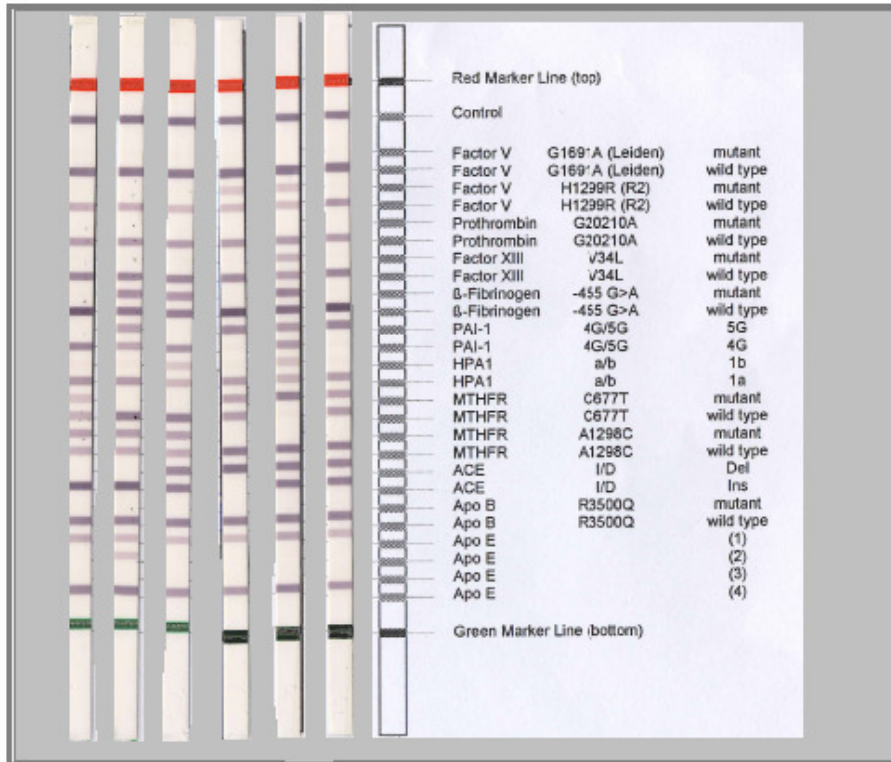
3.2.1. Sağlıklı Bireylerde FMF ve Bazı Kardiyovasküler Risk Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Önemli bir hastalık tanısı konmamış, 50 erkek ve 50 kadın olmak üzere toplam 100 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir.

FMF strip assay ve CVD strip assay bölüm 2.2.'de anlatıldığı gibi reverse-hibridizasyon yöntemini baz almaktadır. Yöntem kısaca, EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerin genomik DNA izolasyonu, multipleks PCR ile çoğaltılması ve nitroselüloz membran üzerinde komplementeri olan oligonükleotit probalar ile PCR ürünlerinin hibridizasyonundan oluşur. Invisorb® Spin Blood Mini Kit izolasyon kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonu yapıldı. FMF ve CVD strip assay kitlerinin prosedürüne göre multipleks PCR ve hibridizasyon yapılarak şekil 3.1 ve şekil 3.2'de görüldüğü gibi FMF ve CVD stripleri üzerinde konjugat-substrat reaksiyonun ürünü renk oluşumu gözlemlendi ve bireylerin mutasyon analizi yapıldı.



Şekil 3.1 : Normal, heterozigot, birleşik heterozigot ve homozigot mutasyonları gösteren FMF Strip Assay.



Şekil 3.2 : Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili polimorfizmleri gösteren CVD Strip Assay.

Sağlıklı bireylerin cinsiyet, FMF mutasyonları ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili polimorfizmleri tablo 3.4'de gösterildi. Kadın ve erkeklerdeki mutasyonların dağılımı tablo 3.5'de özetlenmiştir.

Buna göre; kontrol grubunu kendi içinde değerlendirdiğimizde, 100 sağlıklı bireyde FMF mutasyonlarının kadınlardaki taşıyıcılık oranı %16, erkeklerde ise %18'dir. En sık rastlanılan 12 FMF mutasyonlarından herhangi birini taşımayan birey sayısı ise 83'dür. *Faktör V leiden* mutasyonu kadınların %8'inde, erkeklerin ise %6'sında heterozigot, *Faktör V H1299R* ise kadınların %14'ünde, erkeklerin %10'unda heterozigottur. Ayrıca H1299R 1 erkek bireyde homozigot (%2) olarak belirlenmiştir. Kadınların %2'si ve erkeklerin %2'sinde *protrombin G20210A* mutasyonu heterozigot olarak belirlenmiştir.

Faktör XII V34L mutasyonu kadınların %2'sinde homozigot, %30'unda heterozigot, erkeklerin %4'ünde homozigot ve %28'inde heterozigot olarak belirlenmiştir. Beta-Fibrinojen -455 G>A mutasyonu kadınların %8'inde homozigot, %26'sında ise heterozigot, erkeklerin %6'sında homozigot, %36'sında ise heterozigottur. *PAI-1 delesyon/insersiyona* göre kadınların genotipleri %26'sı 4G/4G, %42'si 4G/5G, %32'si ise 5G/5G, erkeklerin genotipleri %18'si 4G/4G, %54'ü 4G/5G, %28'i ise 5G/5G olarak belirlenmiştir.

Glikoprotein IIIa (*HPA-1*) polimorfizmlerine göre kadınların %64'ü a/a, %30'u a/b ve %6'sı b/b, erkeklerin %72'si a/a, %26'sı a/b ve %2'si b/b'dir. MTHFR C677T mutasyonu kadınların %14'sinde homozigot, %40'sinde heterozigot, erkeklerin %10'unda homozigot, %46'sında ise heterozigot olarak belirlenmiştir. MTHFR A1298C mutasyonu kadınların %14'ünde homozigot, %34'ünde heterozigot, erkeklerin %8'inde homozigot, %48'inde ise heterozigottur. *ACE I/D*'ye göre kadınların genotipleri %14'nün II, %52'sinin ID, %34'nün ise DD, erkeklerin genotipleri %30'nın II, %44'ünün ID ve %26'sının ise DD olarak belirlenmiştir.

APO B R3500Q mutasyonu erkek (%0) ve kadınlarda (%0) rastlanılmamıştır. APOE genotipleri kadınların %12'sinde E2/3, %4'ünde E2/4, %72'sinde E3/3 ve %12'sinde ise E3/4, erkeklerin %14'ünde E2/3, %2'sinde E2/4, %70'sinde E3/3 ve

%14'ünde ise E3/4 olarak belirlenmiştir. Kadın ve erkeklerde E2/2 ve E4/4 genotiplerine rastlanılmamıştır.

Çizelge 3.5. FMF olmayan sağlıklı bireylerde kardiyovasküler panelde bulunan bazı genlere ait polimorfizm durumları. Tablodaki ilk satırda belirtilen ve araştırılan kardiyovasküler risk oluşturduğu düşünülen genlerin uzun isimleri aşağıda belirtilmiştir. *Faktör V Leiden* “Faktör V geninin 1691. pozisyonunda G>A nokta mutasyonu sonucu 506. pozisyonda glisin alanine dönüşümü (G1691A, FV R506Q)”, ‘*Faktör V H1299R* “1299. pozisyonunda histidin arginine substitusyonu”. *Protrombin G20210A* “Faktör II geninin 3'-UTR bölgesindeki guaninin adenine yer değiştirmesine sebep olan polimorfizm”, *Faktör XIII V34L* “trombin kesim noktasından 3 amino asit uzaklıkta 34. amino asitte valinin lö sine (Val34Leu) substitusyonu”, *Beta Fibrinojen -455 G>A* “5' promotor bölgesinde -455. pozisyonda guaninin adenine substitusyonu”, *PAI-1 4G/5G* “Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 genindeki 4G/5G delesyon insersiyon promoter polimorfizmleri, mutant allel 4G ve normal allel 5G'dir.” *HPA1 a/b* “Glikoprotein IIIa, 33. aminoasitde meydana gelen lösinin proline substitusyonu, 'a' normal allel, 'b' ise mutant alleldir”. *MTHFR C677T ve A1298C* “Metilentetrahidrofolat redüktaz enzim genindeki 677. pozisyonda C>T ve 1298. pozisyonda A>C dönüşümü”, *ACE I/D* “Anjiyotensin dönüştürücü enzim geninin 16. intronunda 250 bp'lik delesyon/insersiyonu, DD homozigot delesyonu, II homozigot insersiyonu, ID ise heterozigot delesyon/insersiyonu tanımlar”. *APO B R3500Q* “Apolipoprotein B'de 3500. pozisyonda argininin glutamine substitusyonu”, *APOE* “Apolipoprotein E'de 112. ve 158. pozisyonlarında meydana gelen substitusyondan dolayı 6 farklı fenotip oluşur; homozigot E2/2, E3/3, E4/4 ve heterozigot E3/2, E4/2, E4/3". Tablo da HT “heterozigot” durumunu, HM “Homozigot” ve N “normal allel” varlığını gösterir.

Sıra NO	Cinsiyet	FMF (Heterozigot Mutant)	Factor V LEIDEN	Factor V H1299R	Prothrombin G20210A	Factor XIII V34L	B-Fibrinogen -455 G>A	PAI-1 4G/5G	HPA 1 a/b	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	ACE I/D	APO E R3500Q	APO E Genotipi
1	K	N	N	N	N	HT	HM	5G/5G	a/a	N	N	II	N	E3/3
2	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	HT	HT	DD	N	E3/3
3	E	K695R	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	HT	N	ID	N	E3/3
4	E	K695R	N	N	N	HM	N	5G/5G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/4
5	E	N	N	HM	N	HT	HM	4G/5G	a/a	N	HM	ID	N	E3/3
6	E	N	N	HT	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HM	ID	N	E3/3
7	E	N	N	N	N	HM	N	5G/5G	a/b	HT	N	ID	N	E3/3
8	E	E148Q	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HT	ID	N	E2/3
9	E	N	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/b	HM	N	II	N	E3/3
10	E	N	N	N	N	HT	N	5G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
11	E	N	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
12	E	N	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	N	HT	II	N	E3/3
13	E	N	N	N	HT	N	N	4G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
14	E	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
15	E	N	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/3
16	E	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
17	E	N	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/b	N	N	II	N	E3/3
18	E	N	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	N	HM	II	N	E3/3
19	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E2/3
20	E	N	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
21	E	N	N	N	N	HT	N	4G/4G	b/b	N	HT	II	N	E3/3
22	E	E148Q	N	HT	N	N	N	4G/5G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/4
23	E	N	HT	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HT	HT	DD	N	E2/4
24	E	E148Q-P369S	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HT	HT	II	N	E3/3
25	E	N	N	HT	N	N	HT	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
26	E	E148Q-M694V	HT	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
27	E	N	N	HT	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HT	II	N	E3/3
28	E	N	N	N	N	HT	N	4G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
29	E	N	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
30	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	N	N	II	N	E3/3
31	E	E148Q	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	HM	N	ID	N	E3/3
32	E	N	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/a	N	N	II	N	E3/3
33	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E2/3
34	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/4
35	E	N	HT	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	N	N	II	N	E2/3
36	K	N	N	HT	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HM	ID	N	E3/3
37	K	N	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/b	HT	HT	DD	N	E3/3
38	K	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	N	ID	N	E3/3
39	K	V726A	N	N	N	N	N	4G/4G	a/b	HT	HT	II	N	E3/3
40	K	N	N	HT	N	N	N	4G/5G	a/a	HM	N	DD	N	E3/3
41	K	N	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
42	K	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/3
43	K	M680I G>A	HT	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E2/3
44	K	N	N	N	N	HT	HT	5G/5G	a/b	N	HM	II	N	E3/3
45	K	N	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	N	II	N	E3/3
46	K	N	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/4
47	K	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HM	N	II	N	E3/3
48	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/b	HT	HT	ID	N	E3/3
49	K	N	N	HT	N	HT	N	4G/5G	b/b	N	HT	DD	N	E3/3
50	K	N	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/a	N	HT	II	N	E3/4
51	K	N	N	HT	N	HT	N	4G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
52	K	N	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
53	K	N	N	N	N	N	N	4G/5G	b/b	N	HM	ID	N	E3/3
54	K	K695R	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/b	HT	N	DD	N	E3/3
55	K	E148Q	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	N	N	DD	N	E3/4

Çizelge 3.5. Devamı

56	K	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HM	ID	N	E3/3
57	K	N	N	N	N	HT	N	5G/5G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
58	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	HT	HT	DD	N	E3/3
59	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HT	ID	N	E2/3
60	E	N	N	N	N	N	HM	5G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E2/3
61	E	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HM	II	N	E3/3
62	E	E148Q	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
63	E	N	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/b	N	HT	II	N	E3/4
64	E	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/b	HT	N	DD	N	E2/3
65	E	N	N	N	N	HT	HT	5G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
66	E	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
67	E	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/4
68	E	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	II	N	E3/4
69	E	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	II	N	E3/3
70	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/b	N	HT	ID	N	E3/3
71	E	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/b	HT	HT	II	N	E2/3
72	E	N	N	N	N	HT	HT	4G/4G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
73	E	N	N	HT	N	HT	HT	5G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/4
74	E	N	N	N	N	N	HM	4G/5G	a/b	N	HT	DD	N	E3/4
75	E	N	N	N	HT	HT	N	4G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/3
76	K	N	HT	N	HT	N	N	4G/5G	a/b	HT	HT	ID	N	E3/3
77	K	E148Q-P369S	N	N	N	N	N	5G/5G	a/b	HT	N	DD	N	E3/3
78	K	N	N	N	N	HT	N	5G/5G	b/b	HT	N	ID	N	E2/4
79	K	V726A	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/b	HM	N	DD	N	E3/3
80	K	N	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E2/3
81	K	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
82	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/4
83	K	N	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/3
84	K	N	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/b	N	HM	DD	N	E3/3
85	K	N	N	HT	N	HT	N	4G/5G	a/a	N	N	DD	N	E3/3
86	K	N	HT	N	N	N	N	4G/5G	a/b	HT	HT	II	N	E2/3
87	K	N	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	N	HT	DD	N	E2/3
88	K	N	N	N	N	HT	N	4G/5G	a/b	N	HM	ID	N	E3/3
89	K	N	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/4
90	K	N	HT	N	N	N	N	4G/4G	a/b	N	HT	DD	N	E3/3
91	K	N	N	N	HT	HM	HT	5G/5G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
92	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E2/3
93	K	N	N	N	N	N	HM	5G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/3
94	K	N	N	HT	N	N	N	5G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
95	K	N	N	HT	N	N	HM	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
96	K	N	N	N	N	HT	HM	4G/5G	a/b	HT	N	DD	N	E3/3
97	K	E148Q	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
98	K	N	N	N	N	N	N	5G/5G	a/b	N	HM	ID	N	E3/3
99	K	V726A	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E2/4
100	K	N	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3

Çizelge 3.6: Sağlıklı bireylerde FMF ve bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin cinsiyete göre dağılımları. (Normal allel 'N' ile gösterilmiştir.)

Cinsiyet		Kadın		Erkek		Total %
		n	%	n	%	
Mutasyon						
FMF	M694V/N	0	0.0	1	2.0	1.00
	E148Q/N	2	4.0	4	8.0	6.00
	V726A/N	3	6.0	0	0.0	3.00
	K695R/N	1	2.0	2	4.0	3.00
	M694V/E148Q	0	0.0	1	2.0	1.00
	E148Q/P369S	1	2.0	1	2.0	2.00
	M680I G>A	1	2.0	0	0.0	1.00
	N/N	42	84.0	41	82.0	83.00
Faktör V	FVL/FVL	0	0.0	0	0.0	0.00
	FVL/N	4	8.0	3	6.0	7.00
	N/N	46	92.0	47	94.0	93.00
	H1299R/ H1299R	0	0.0	1	2.0	1.00
	H1299R/N	7	14.0	5	10.0	12.00
	N/N	43	86.0	44	88.0	87.00
Protrombin	G20210A/G20210A	0	0.0	0	0.0	0.00
	G20210A/N	2	4.0	2	4.0	4.00
	N/N	48	96.0	48	96.0	96.00
Faktör XIII	V34L/V34L	1	2.0	2	4.0	3.00
	V34L/N	15	30.0	14	28.0	29.00
	N/N	34	68.0	34	68.0	68.00
Beta Fibrinojen	455G>A/-455G>A	4	8.0	3	6.0	7.00
	455G>A/N	13	26.0	18	36.0	31.00
	N/N	33	66.0	29	58.0	62.00
PAI-1	4G/4G	13	26.0	9	18.0	22.00
	4G/5G	21	42.0	27	54.0	48.00
	5G/5G	16	32.0	14	28.0	30.00
HPA-1	a/a	32	64.0	36	72.0	68.00
	a/b	15	30.0	13	26.0	28.00
	b/b	3	6.0	1	2.0	4.00
MTHFR	C677T/C677T	7	14.0	5	10.0	12.00
	C677T/N	20	40.0	23	46.0	43.00
	N/N	23	46.0	22	44.0	45.00
	A1298C/A1298C	7	14.0	4	8.0	11.00
	A1298C/N	17	34.0	24	48.0	41.00
	N/N	26	52.0	22	44.0	48.00
ACE	II	7	14.0	15	30.0	22.00
	ID	26	52.0	22	44.0	48.00
	DD	17	34.0	13	26.0	30.00
APO B	R3500Q/R3500Q	0	0.0	0	0.0	0.00
	R3500Q/N	0	0.0	0	0.0	0.00
	N/N	50	100.0	50	100.0	100.00
APO E Genotipleri	APOE 2/2	0	0.0	0	0.0	0.00
	APOE 2/3	6	12.0	7	14.0	13.00
	APOE 2/4	2	4.0	1	2.0	3.00
	APOE 3/3	36	72.0	35	70.0	71.00
	APOE 3/4	6	12.0	7	14.0	13.00
	APOE 4/4	0	0.0	0	0.0	0.00

3.2.2. FMF Hastalarında FMF mutasyonları ve Bazı Kardiyovasküler Risk Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

Uludağ Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'ndan FMF mutasyonlarını homozigot taşıyan, yaşları 4-50 arasında değişen 25 kadın, 3-39 arasında değişen 25 erkek hasta çalışmamızda kardiyovasküler riske neden olan bazı polimorfizmleri belirlemek amacı ile çalışmamıza dahil edilmiştir. FMF mutasyonları açısından bir değerlendirme yapıldığında, cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 39 M694V/M694V, 5 M680I G/C-M680I G/C, 3 E148Q/E148Q, 1 A744S/A744S, 1 V726A/V726A ve 1 M694V-K695R mutasyonlarını taşıyan FMF hastaları ile çalışma yapılmıştır.

FMF hastalarına ait yaş, cinsiyet ve mutasyon dağılımı tablo 3.6'da gösterildi. Buna göre 50 FMF hastası kendi içinde değerlendirildiğinde, kadınların %80'i M694V, %12'si M680I G>C, %4'ü E148Q ve %4'ü de V726A mutasyonu açısından homozigot, erkeklerde %76'sı M694V, %8'i M680I G>C, %8'i E148Q ve %4'ü A744S mutasyonu açısından homozigot, 1 erkek birey (%4) ise M694V/K695R birleşik heterozigot olarak belirlenmiştir (tablo 3.7).

FMF hastalarının cinsiyet, FMF mutasyonları ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili polimorfizmleri tablo 3.8'de gösterildi. Kadın ve erkeklerdeki mutasyonların dağılımı tablo 3.9'da özetlenmiştir.

FMF hastaları kendi aralarında kardiyovasküler risk polimorfizmlerine göre değerlendirildiğinde, *Faktör V leiden* mutasyonu kadınların %4'ünde, erkeklerin ise %12'sinde heterozigot, *Faktör V H1299R* ise kadınların %8'ünde, erkeklerin %16'sında heterozigottur. Ayrıca H1299R 1 kadın bireyde homozigot (%4) olarak belirlenmiştir. Kadınların %4'ü ve erkeklerin %4'ünde *protrombin G20210A* mutasyonu heterozigot olarak belirlenmiştir.

Faktör XII V34L mutasyonu kadınların %4'ünde homozigot, %16'sında heterozigot, erkeklerin %8'inde homozigot ve %28'inde heterozigot olarak belirlenmiştir. Beta-Fibrinojen -455 G>A mutasyonu kadınların %4'ünde homozigot, %48'sinde ise heterozigot, erkeklerin %8'inde homozigot, %40'ında ise heterozigottur. *PAI-1 delesyon/insersiyona* göre kadınların genotipleri %32'si

4G/4G, %48'i 4G/5G, %20'si ise 5G/5G, erkeklerin genotipleri %32'si 4G/4G, %32'si 4G/5G, %36'ı ise 5G/5G olarak belirlenmiştir.

Glikoprotein IIIa (*HPA-I*) polimorfizmlerine göre kadınların %76'sı a/a, %24'ü a/b ve %0'ı b/b, erkeklerin %84'ü a/a, %16'sı a/b ve %0'ı b/b'dir. MTHFR C677T mutasyonu kadınların %12'sinde homozigot, %32'sinde heterozigot, erkeklerin %8'inde homozigot, %40'ında ise heterozigot olarak belirlenmiştir. MTHFR A1298C mutasyonu kadınların %8'inde homozigot, %40'ünde heterozigot, erkeklerin %12'inde homozigot, %44'ünde ise heterozigottur. *ACE I/D*'ye göre kadınların genotipleri %16'sı II, %48'si ID, %36'sının ise DD, erkeklerin genotipleri %16'sı II, %36'sı ID ve %48'inin ise DD olarak belirlenmiştir.

APO B R3500Q mutasyonu erkek (%0) ve kadınlarda (%0) rastlanılmamıştır. APOE genotipleri kadınların %4'ü E2/3, %96'sı E3/3, erkeklerin %4'ü E2/3, %84'ü E3/3 ve %12'si E3/4 olarak belirlenmiştir. Kadın E2/2, E2/4, E3/4 ve E4/4 genotiplerine ve erkeklerde E2/2, E2/4 ve E4/4 genotiplerine rastlanılmamıştır.

Çizelge 3.7.: FMF hastalarının cinsiyet, yaş ve genotipleri (* temin edilemeyen bilgi)

Sıra no	Cinsiyet	Yaş	Genotip
1	E	*	M694V/M694V
2	K	*	M694V/M694V
3	E	*	M694V/M694V
4	E	*	E148Q/E148Q
5	E	*	M694V-M694V
6	E	29	M694V/M694V
7	K	12	V726A/V726A
8	K	9	M694V/M694V
9	K	*	M694V/M694V
10	E	*	M694V/M694V
11	K	10	M694V/M694V
12	K	12	M694V/M694V
13	K	14	M694V/M694V
14	E	7	M694V/M694V
15	K	10	M694V/M694V
16	E	21	M694V/M694V
17	E	15	M694V/M694V
18	E	26	M694V/M694V
19	E	3	E148Q/E148Q
20	E	35	M694V/M694V
21	E	39	M694V/M694V
22	E	13	M680I G/C-M680I G/C
23	E	12	M694V/M694V
24	K	11	M694V/M694V
25	E	28	M694V/M694V
26	K	27	M680I G/C-M680I G/C
27	E	9	M680I G/C-M680I G/C
28	K	4	E148Q/E148Q
29	E	9	M694V/M694V
30	E	5	M694V/M694V
31	K	50	M680I G/C-M680I G/C
32	K	7	M694V/M694V
33	K	15	M694V/M694V
34	E	15	M694V/M694V
35	K	7	M694V/M694V
36	K	6	M694V/M694V
37	E	34	M694V/M694V
38	K	8	M694V/M694V
39	K	*	M694V/M694V
40	K	9	M694V/M694V
41	E	*	M694V/M694V
42	E	*	A744S/A744S
43	K	*	M694V/M694V
44	E	*	M694V/M694V
45	K	*	M680I G/C-M680I G/C
46	K	*	M694V/M694V
47	K	*	M694V/M694V
49	K	*	M694V/M694V
49	E	*	M694V/M694V
50	K	*	M694V/M694V

Çizelge 3.8. Cinsiyete göre FMF mutasyonlarının dağılımı

Cinsiyet	Kadın		Erkek		Total %
	n	%	n	%	
Mutasyon					
M694V/ M694V	20	80.0	19	76.0	78.0
M680I G>C /M680I G>C	3	12.0	2	8.0	10.0
E148Q/E148Q	1	4.0	2	8.0	6.0
A744S/ A744S	0	0.0	1	4.0	2.0
V726A/ V726A	1	4.0	0	0.0	2.0
M694V/K695R	0	0.0	1	4.0	2.0

Çizelge 3.9. FMF homozigot olarak belirlenmiş hasta bireylerde kardiyovasküler panelde bulunan bazı genlere ait polimorfizm durumları. Tablodaki ilk satırda belirtilen ve araştırılan kardiyovasküler risk oluşturduğu düşünülen genlerin uzun isimleri aşağıda belirtilmiştir. *Faktör V Leiden* “Faktör V geninin 1691. pozisyonunda G>A nokta mutasyonu sonucu 506. pozisyonda glisinin alanine dönüşümü (G1691A, FV R506Q)”, “*Faktör V H1299R* “1299. pozisyonunda histidinin arginine substitusyonu”. *Protrombin G20210A* “Faktör II geninin 3’-UTR bölgesindeki guaninin adenine yer değiştirmesine sebep olan polimorfizm”, *Faktör XIII V34L* “trombin kesim noktasından 3 amino asit uzaklıkta 34. amino asitte valinin löesine (Val34Leu) substitusyonu”, *Beta Fibrinojen -455 G>A* “5’ promotor bölgesinde -455. pozisyonda guaninin adenine substitusyonu”, *PAI-1 4G/5G* “Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 genindeki 4G/5G delesyon insersiyon promoter polimorfizmleri, mutant allel 4G ve normal allel 5G’dir.” *HPAI a/b* “Glikoprotein IIIa, 33. aminoasitte meydana gelen lösinin proline substitusyonu, ‘a’ normal allel, ‘b’ ise mutant alleldir”. *MTHFR C677T ve A1298C* “Metilentetrahidrofolat redüktaz enzim genindeki 677. pozisyonda C>T ve 1298. pozisyonda A>C dönüşümü”, *ACE I/D* “Anjiyotensin dönüştürücü enzim geninin 16. intronunda 250 bp’lik delesyon/insersiyonu, DD homozigot delesyonu, II homozigot insersiyonu, ID ise heterozigot delesyon/insersiyonu tanımlar”. *APO B R3500Q* “Apolipoprotein B’de 3500. pozisyonda argininin glutamine substitusyonu”, *APOE* “Apolipoprotein E’de 112. ve 158. pozisyonlarında meydana gelen substitusyondan dolayı 6 farklı fenotip oluşur; homozigot *E2/2*, *E3/3*, *E4/4* ve heterozigot *E3/2*, *E4/2*, *E4/3*”. Tablo da *HT* “heterozigot” durumunu, *HM* “Homozigot” ve *N* “normal allel” varlığını gösterir.

Sir a NO	Cinsiyet	FMF (HM Mutant)	Factor V LEIDEN	Factor V H1299R	Prothrombin G20210A	Factor III V34L	B-Fibrinogen - 455 G>A	PAI-1 4G/5G	HPA 1 a/b	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	ACE I/D	APO B R3500Q	APO E Genotip
1	E	M694V	N	HT	N	HM	N	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
2	K	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	N	II	N	E3/3
3	E	M694V	N	N	N	HT	HT	4G/4G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/3
4	E	E148Q	N	HT	N	N	N	4G/5G	a/a	HT	HT	DD	N	E3/4
5	E	M694V-K695R	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/b	HT	N	DD	N	E3/3
6	E	M694V	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/b	N	HM	II	N	E 2/3
7	K	V726A	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HT	ID	N	E2/3
8	K	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
9	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/b	HT	HT	ID	N	E3/3
10	E	M694V	HT	N	N	N	HT	5G/5G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
11	K	M694V	N	N	N	HM	N	4G/5G	a/a	N	N	DD	N	E3/3
12	K	M694V	N	HM	N	N	HT	4G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
13	K	M694V	N	N	N	HT	N	4G/5G	a/b	N	HM	ID	N	E3/3
14	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HM	DD	N	E3/3
15	K	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	HM	N	DD	N	E3/3
16	E	M694V	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
17	E	M694V	N	N	N	HT	HT	4G/5G	a/a	N	HM	ID	N	E3/4
18	E	M694V	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
19	E	E148Q	N	HT	HT	HT	N	5G/5G	a/b	N	N	II	N	E3/3
20	E	M694V	HT	N	N	N	N	5G/5G	a/a	N	N	ID	N	E3/4
21	E	M694V	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
22	E	M680I G/C	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	N	N	DD	N	E3/3
23	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
24	K	M694V	N	N	N	HT	N	5G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
25	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/4G	a/a	N	HT	II	N	E3/3
26	K	M680I G/C	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	HT	HT	II	N	E3/3
27	E	M680I G/C	N	HT	N	N	HT	4G/4G	a/b	N	HT	ID	N	E3/3
28	K	E148Q	N	N	N	HT	HT	5G/5G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
29	E	M694V	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
30	E	M694V	N	N	N	N	HT	5G/5G	a/a	HT	N	II	N	E3/3
31	K	M680I G/C	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/b	N	N	II	N	E3/3
32	K	M694V	N	N	HT	N	HT	4G/4G	a/a	N	N	ID	N	E3/3
33	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
34	E	M694V	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/a	HT	N	ID	N	E3/3
35	K	M694V	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
36	K	M694V	N	N	N	N	N	4G/4G	a/b	N	HM	DD	N	E3/3
37	E	M694V	N	N	N	HM	HM	5G/5G	a/a	HM	N	DD	N	E3/3
38	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/b	N	N	ID	N	E3/3
39	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	HT	II	N	E3/3
40	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
41	E	M694V	N	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	HT	HT	ID	N	E3/3
42	E	A744S	HT	N	N	HT	HM	4G/5G	a/a	HT	N	DD	N	E3/3
43	K	M694V	HT	N	N	N	HT	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
44	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
45	K	M680I G/C	N	N	N	N	N	5G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
46	K	M694V	N	N	N	HT	N	4G/4G	a/a	N	HT	ID	N	E3/3
47	K	M694V	N	N	N	N	HT	4G/4G	a/a	HM	N	ID	N	E3/3
48	K	M694V	N	HT	N	N	HM	4G/4G	a/b	HT	N	DD	N	E3/3
49	E	M694V	N	N	N	N	N	4G/5G	a/a	N	HT	DD	N	E3/3
50	K	M694V	N	HT	N	N	N	5G/5G	a/a	N	N	DD	N	E3/3

Çizelge 3.10: FMF hastalarında bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin cinsiyete göre dağılımları. (Normal allel 'N' ile gösterilmiştir.)

Cinsiyet		Kadın		Erkek		Total %
Mutasyon		n	%	n	%	
<i>Faktör V</i>	FVL/FVL	0	0.0	0	0.0	0.00
	FVL/N	1	4.0	3	12.0	8.00
	N/N	24	96.0	22	88.0	92.00
	H1299R/ H1299R	1	4.0	0	0.0	2.00
	H1299R/N	2	8.0	4	16.0	12.00
	N/N	22	88.0	21	84.0	86.00
<i>Protrombin</i>	G20210A/G20210A	0	0.0	0	0.0	0.00
	G20210A/N	1	4.0	1	4.0	4.00
	N/N	24	96.0	24	96.0	96.00
<i>Faktör XIII</i>	V34L/V34L	1	4.0	2	8.0	6.00
	V34L/N	4	16.0	7	28.0	22.00
	N/N	20	80.0	16	64.0	72.00
<i>Beta Fibrinojen</i>	455G>A/-455G>A	1	4.0	2	8.0	6.00
	455G>A/N	12	48.0	10	40.0	44.00
	N/N	12	48.0	13	52.0	50.00
<i>PAI-1</i>	4G/4G	8	32.0	8	32.0	32.00
	4G/5G	12	48.0	8	32.0	40.00
	5G/5G	5	20.0	9	36.0	28.00
<i>HPA-1</i>	a/a	19	76.0	21	84.0	80.00
	a/b	6	24.0	4	16.0	20.00
	b/b	0	0.0	0	0.0	0.00
<i>MTHFR</i>	C677T/C677T	3	12.0	2	8.0	10.00
	C677T/N	8	32.0	10	40.0	36.00
	N/N	14	56.0	13	52.0	54.00
	A1298C/A1298C	2	8.0	3	12.0	10.00
	A1298C/N	10	40.0	11	44.0	42.00
	N/N	13	52.0	11	44.0	48.00
<i>ACE</i>	II	4	16.0	4	16.0	16.00
	ID	12	48.0	9	36.0	42.00
	DD	9	36.0	12	48.0	42.00
<i>APO B</i>	R3500Q/R3500Q	0	0.0	0	0.0	0.00
	R3500Q/N	0	0.0	0	0.0	0.00
	N/N	25	100.0	25	100.0	100.00
<i>APO E Genotipleri</i>	APOE 2/2	0	0.0	0	0.0	0.00
	APOE 2/3	1	4.0	1	4.0	4.00
	APOE 2/4	0	0.0	0	0.0	0.00
	APOE 3/3	24	96.0	21	84.0	90.00
	APOE 3/4	0	0.0	3	12.0	6.00
	APOE 4/4	0	0.0	0	0.0	0.00

Çizelge 3.11 FMF hastalarında ve sağlıklı bireylerde bazı kardiyovasküler polimorfizmlerin karşılaştırılması. (Normal allel 'N' ile gösterilmiştir.)

Mutasyon		Kontrol % (n:100)	FMF % (n:50)
<i>Faktör V</i>	FVL/FVL	0.00	0.00
	FVL/N	7.00	8.00
	N/N	93.00	92.00
	H1299R/ H1299R	1.00	2.00
	H1299R/N	12.00	12.00
	N/N	87.00	86.00
<i>Protrombin</i>	G20210A/G20210A	0.00	0.00
	G20210A/N	4.00	4.00
	N/N	96.00	96.00
<i>Faktör XIII</i>	V34L/V34L	3.00	6.00
	V34L/N	29.00	22.00
	N/N	68.00	72.00
<i>Beta Fibrinojen</i>	455G>A/-455G>A	7.00	6.00
	455G>A/N	31.00	44.00
	N/N	62.00	50.00
<i>PAI-1</i>	4G/4G	22.00	32.00
	4G /5G(N)	48.00	40.00
	5G (N)/5G(N)	30.00	28.00
<i>HPA-1</i>	a (N) /a (N)	68.00	80.00
	A (N) /b	28.00	20.00
	b/b	4.00	0.00
<i>MTHFR</i>	C677T/C677T	12.00	10.00
	C677T/N	43.00	36.00
	N/N	45.00	54.00
	A1298C/A1298C	11.00	10.00
	A1298C/N	41.00	42.00
	N/N	48.00	48.00
<i>ACE</i>	II	22.00	16.00
	ID	48.00	42.00
	DD	30.00	42.00
<i>APO B</i>	R3500Q/R3500Q	0.00	0.00
	R3500Q/N	0.00	0.00
	N/N	100.00	100.00
<i>APO E Genotipleri</i>	APOE 2/2	0.00	0.00
	APOE 2/3	13.00	4.00
	APOE 2/4	3.00	0.00
	APOE 3/3	71.00	90.00
	APOE 3/4	13.00	6.00
	APOE 4/4	0.00	0.00

3.3. Sağlıklı Bireyler ve FMF Hastalarında Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Belirlenmesi

FMF hastalarında ataklar sırasında sık rastlanılan lökositoz, eritrosit sedimantasyon hızındaki artış ve akut faz yanıtta yükselen fibrinojen değerleri ile arasında korelasyonu belirlemek amacıyla sedim, fibrinojen ve hematolojik parametre değerleri, karaciğer fonksiyon testleri, kan şekeri, böbrek fonksiyon testleri, lipid profili, protein ve albumin seviyeleri gibi biyokimya testleri sağlıklı kontroller ve FMF hastalarında belirlendi.

Araştırmada, kullanılan sağlıklı ve FMF'li bireylere ait hematolojik parametre değerleri ve biyokimyasal parametre sonuçları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

FMF hastalarının ve sağlıklı bireylerin kan sayım değerleri Cell Dyn 3700 (Abbott) kan sayım cihazında, biyokimyasal parametreleri Aeroset 1 (Abbott) otoanalizör sisteminde, FMF hastalarına ait fibrinojen değerleri BCS (Dade Behring) koagülametrede, sedim değerleri Alifax sedimentasyon cihazında, sağlıklı bireylere ait apolipoprotein değerleri BN ProSpec (Dade Behring) neflometrede ölçülmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız 25 kadın ve 32 erkek toplam 57 kontrol bireylerinin hemogram sonuçları tablo 3.10'da, biyokimyasal parametre sonuçları ise tablo 3.11'de gösterilmiştir. 25'i kadın, 25'i erkek 50 FMF hastasının hemogram sonuçları tablo 3.12, biyokimyasal parametre sonuçları tablo 3.13 gösterilmiştir.

3.4. Sağlıklı Bireyler ve FMF Hastalarında Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin karşılaştırılması

3.4.1. Sağlıklı Bireyler Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması

Önemli bir hastalık tanısı konmamış 25 kadın, 32 erkek çalışmamıza dahil edilmiştir. Her bir bireye ait cinsiyet ve ilgili kişilere ait fibrinojen ve hemogram

değerleri tablo 3.10’da, karaciğer fonksiyon testleri, kan şekeri, böbrek fonksiyon testleri, lipid profili, protein ve albumin değerleri, homosistein, apolipoprotein A, A₂, B ve E değerleri tablo 3.11’de görülmektedir.

Çizelge 3.12. FMF homozigot olmayan sağlıklı bireylere ait hemogram değerleri. İlk satırda araştırılan hemogram değerleri belirtilmiştir. Araştırılan kısaltılmış parametrelerin uzun isimleri şöyledir: *Sedim 1* “sedimentasyon 1 saat”, *Hgb* “hemoglobin”, *Hct* “Hematokrit”, *MCV* “Mean Corpuscular Volume”, *MCH* “Mean Corpuscular Hemoglobin”, *MCHC* “Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration”, *RDW* “Red cell Distribution Width, Eritrosit dağılım genişliği”, *MPV* “Mean Platelet Volume”, *WBC* “White Blood Cell, beyaz kan hücresi, lökosit”, *Lenfosit %*, *Monosit %*, *Granülosit %* (lenfosit, esinofil ve bazofil). Hemogram parametre bilgileri bulunmayan “*” ile gösterilmiştir

Sıra NO	Fibrinojen	Hemoglobin	Hematokrit	MCV	MCH	MCHC	RDV	MPV	WBC	Lenfosit %	Monosit %	Nötrofil %	Esinofil %	Bazofil %
1	3.9	12.4	38.2	85.5	27.8	32.5	14.7	11.1	8.26	27.4	5.75	*	*	*
2	3.2	15.5	47.1	84.4	27.7	32.8	15.2	6.54	7.31	43.1	6.84	*	*	*
3	3.1	14.6	43.8	81.8	27.3	33.4	16.1	7.97	6.98	42.5	8.95	*	*	*
4	3.6	15.5	46.8	87.4	28.8	33	14.9	8.06	7.54	26.7	8.59	*	*	*
5	3.5	16.2	49	88.1	29	32.9	15.2	8.11	7.95	32.8	6.83	*	*	*
6	4.6	16.2	49.8	87.1	28.3	32.5	16.1	11.5	8.42	35.4	8.2	*	*	*
7	2.8	15	45.4	90.2	29.8	33.1	14	9.42	7.27	28.5	6.26	*	*	*
8	3.2	16	48	84.2	28	33.3	16	7.77	9.14	37.1	8.9	*	*	*
9	3.4	16.5	50.1	90.9	29.9	33	15.6	8.38	7.41	26.1	7.78	*	*	*
10	3.8	16.5	47	84	30	35	14	8.5	5.11	48.5	6.3	*	*	*
11	2.5	15	44	86.6	28.9	35.6	13.2	9.5	6.02	43.5	7.33	*	*	*
12	2.4	14.8	42	83.4	29.5	34.2	14.1	8.51	6.26	43.6	8.36	*	*	*
13	2.8	14	41	78	29	35.2	16	8.9	5.49	34.4	9.38	*	*	*
14	2.5	15	42	86	29.8	36.4	13.5	9.4	5.35	37.4	8.74	*	*	*
15	3.6	13	39	77	26	35.49	14.2	9.4	4.99	32.9	8.84	*	*	*
16	2.6	12	37.6	85	29	34.66	13.8	8.53	4.56	43.6	7.92	*	*	*
17	3.5	15	45	48	32	35.26	13.5	6.79	5.17	34.6	9.97	*	*	*
18	2.9	*	*	75	31.5	35.96	14.2	6.67	6.23	25	6.59	*	*	*
19	4.2	14	41	79	28	36.1	14.8	8.6	7.2	34.4	11.8	*	*	*
20	2.5	16	48	82	29.1	35.56	13.9	9.15	4.9	32.9	8.93	*	*	*
21	3.5	15	45	86.2	28	34.9	13.5	8.4	4.42	29.3	8.25	*	*	*
22	*	16	46	88	27.5	35.2	14	8	5.86	27	9.4	*	*	*
23	*	14	42	83	29.4	34	13.6	7.9	8	27.9	9.29	*	*	*
24	2.3	15.5	44.9	88.9	30.6	34.4	13	9.3	4.29	32.3	10.6	*	*	*
25	2.2	16	46.7	87.8	30	34.1	14	8.85	5.29	38.1	10.5	*	*	*
26	4.3	14.7	44.8	84.1	27.6	32.8	14.4	8.56	7.13	28.3	6.16	*	*	*
27	2.3	16.4	48	81.3	27.7	34.1	16.9	108	7.55	38.1	9.45	43	7.98	1.51
28	1.8	16.2	47.2	88.2	30.2	34.3	14.2	9.41	5.66	35.4	9.03	54.1	0.9	0.6
29	2.9	15.8	45.9	83.9	28.8	34.3	15.1	7.02	7.03	32.2	7.66	57.9	1.72	0.553
30	2.3	13.5	39.7	90.9	30.9	33.9	13.4	8.49	5.58	33.2	8.25	54.6	3.22	0.718
31	2.3	15.9	46.4	82	28.2	34.3	14.1	7.71	6.2	34.2	8.84	32.7	4	0.183

Çizelge 3.12. Devamı

32	2.3	13.5	40.5	79.4	26.5	33.4	16.8	7.59	5.62	42	7.47	48.4	1.45	0.735
33	1.8	13.13	38.2	83.3	28.3	34	13.5	9.75	5.35	42.6	6.06	46.8	3.4	1.1
34	2	13.5	39.7	91.2	30.9	33.9	13.2	9.3	6.35	36.8	6.32	52.6	3.61	0.632
35	2.9	15.6	46.1	84	28.8	33.9	13.4	9.04	5.15	32.4	6.04	58.4	2.35	0.834
36	2.3	11.3	34.6	73.5	24.1	32.8	19.7	8.83	8.31	41.4	6.9	49.2	1.91	0.6
37	4.5	14.5	42.3	87	29.8	34.3	15.1	7.31	6.08	36.6	7.12	55.1	0.668	0.482
38	4.8	13.7	40.4	85.2	28.9	34	15.2	9.11	7	27.6	6.47	63.7	1.63	0.598
39	3.2	12.5	36.2	86.4	29.9	34.6	14.3	9.12	5.57	33.7	7.16	57.9	0.57	0.71
40	3.9	12.2	36.3	89.9	28.6	33.7	13.1	8.05	5.49	38.6	7.8	51.1	1.86	0.64
41	3.3	12.1	37.5	86.2	27.8	32.3	17.3	8.63	6.04	35	9.48	50.2	4.55	0.76
42	3.3	10.7	33.2	78.8	25.3	32.1	18.3	10.1	5.85	45.8	7.83	43.1	2.07	1.24
43	3.2	13.2	40	90.6	30	33.1	13.3	8.29	7.87	27.1	7.08	64.2	1.03	0.59
44	2.4	9.44	29.3	65.6	21.1	32.3	17.3	7.01	3.06	31.6	5.52	57.4	3.6	1.9
45	3.7	11.7	34.2	80	27.1	34.3	15.2	9.63	6.23	38.6	8	52.1	0.74	0.56
46	2.9	14	40.7	85.7	29.7	34.7	13.3	6.18	6.65	34	8.06	56.3	0.77	0.87
47	2.3	12.9	36.2	81.8	30.3	35.6	14.7	8.62	7.89	31.1	8.3	58.6	0.89	1.02
48	2.2	13.3	36.5	88.4	32.2	36.4	12	9.56	8.81	32.8	9.28	55.1	1.86	0.93
49	3.2	10	31	73.8	23.2	31.6	18.6	8.97	7.33	38.4	6.58	52.6	1.48	0.92
50	2.8	14.2	42.1	82.2	27.7	33.7	15.2	9.44	7.49	25.9	6.05	62.2	4.77	1.06
51	3.5	13	36.2	82.5	29.6	35.9	14.2	13.1	6.5	33.5	13.1	49.7	2.17	1.56
52	4.8	13.7	40.4	85.2	28.9	34	15.2	9.11	7	27.6	6.47	63.7	1.63	0.598
53	4.6	12.8	37.6	81.2	27.6	34	14.2	8.1	6.82	31.2	2	62	2.5	0.3
54	3.1	12.9	37.8	84.6	28.8	34	15.3	7.54	7.23	35.7	8.92	52.3	2.28	0.78
55	3.5	13.9	41.5	87.3	29.2	33.4	13.6	7.96	5.15	36.1	6.99	55.1	1.09	0.73
56	2.9	14.6	43.9	85	28.4	33.4	12.8	7.46	8.25	32.1	5.63	60.2	1.37	0.745
57	3.2	14	40	84	29	34	14	9.7	6.38	21.8	6.36	70.3	1.11	0.43

Çizelge 3.13. FMF Homozigot olmayan sağlıklı bireylere ait bazı biyokimyasal parametreler. Tabloda belirtilen parametrelerin uzun isimleri şöyledir; GLU “ Glukoz”, URE “Üre”, CREA “Kreatinin”, UA “ürik asit”, K Potasyum, Na “Sodyum”, Cl “Klor”, P Fosfor, Ca “Kalsiyum”, T-Bil “ Total Bilirubin”, D-Bil “Direkt Bilirubin”, İndirekt Bil “indirekt bilirubin”, TP “ Total Protein”, ALB “Albumin”, AST “aspartat aminotransferaz”, ALT “alanine aminotransferaz”, ALP “Alkalen Fosfataz”, LDH “Laktaz Dehidrogenaz”, CPK “Kreatinin fosfokinaz”, CHOL “Kolesterol”, HDL “Yüksek dansiteli lipoprotein”, Trig “Trigliserit”, LDL “düşük dansiteli lipoprotein”, VLDL “ çok düşük dansiteli lipoprotein”. Test parametre bilgileri bulunmayan “*” ile ifade edilmiştir.

Sıra NO	GLU (mg/dl)	URE (mg/dl)	CREA (mg/dl)	UA	Na (meq/L)	K (meq/L)	Cl (meq/L)	P	Ca (mg/dl)	T-Bil	D-Bil	İndirekt-Bil	TP	Globin	ALB (g/dl)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	ALP	LDH	CPK	Chol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Trig (mg/dl)	Chol LDH	Chol/HDL	VLDL	GGT	H.SIS.	APOE	APOA	APOA2	APOB
1	87	27	0.8	3.4	140	4.6	107	2.8	9	0.6	0.22	0.38	7.2	2.7	4.5	19	27	78	172	95	163	40	64	110.2	4	12.8	60	6.2	3	192	28	76
2	100	19	0.9	6.1	143	4.4	106	3.1	9	0.7	0.19	0.51	7.5	2.6	4.9	24	35	68	187	119	233	44	442	100.6	5	*	38	10.2	14	141	35	75
3	93	26	0.9	7.2	144	4.1	105	3.2	9.2	0.7	0.29	0.41	7.4	2.8	4.6	22	26	57	173	86	167	39	78	112.4	4	15.6	33	10.8	3	138	29	81
4	94	25	1	5.4	142	4.1	104	4	8.8	0.5	0.21	0.29	7.2	2.4	4.8	27	52	74	176	409	153	32	164	88.2	5	32.8	69	7.7	3	118	28	84
5	105	21	0.8	4.2	141	4.6	107	3.4	8.8	0.3	0.14	0.16	6.9	2.1	4.8	21	38	83	167	73	151	37	78	98.4	4	15.6	34	10.8	3	135	29	76
6	84	26	0.9	4.2	145	4	103	3	9.3	0.7	0.28	0.42	8.1	3	5.1	25	25	102	195	50	182	53	89	111.6	3	17.4	45	12.3	5	159	32	89
7	120	36	1.2	8.5	143	4.1	105	3.1	8.8	0.3	0.13	0.17	7.2	2.6	4.6	21	20	93	220	128	168	38	307	68.6	4	61.4	73	23.2	4	134	26	129
8	93	22	0.9	5.7	142	4.1	101	2.9	9.7	0.6	0.21	0.39	8.2	3.2	5	42	83	83	201	232	209	53	137	128.6	4	27.4	133	9.3	6	162	41	101
9	90	23	0.9	5.1	142	4.6	104	4	9	0.4	0.14	0.26	7.4	3.3	4.1	39	59	58	196	117	256	47	185	172	5	37	71	15.2	6	136	27	135
10	85	27	0.9	5.3	141	4.2	102	3.1	8.8	0.5	0.21	0.38	7.5	2.6	4.9	23	30	69	196	126	235	38	69	125.3	*	*	49	9.5	3	144	32	13
11	84	25	0.9	5.2	141	4.3	103	3.5	8.9	0.6	0.19	0.34	7.5	2.4	4.6	21	24	56	162	79	165	39	86	112.8	4	*	35	9.5	3	133	27	94
12	91	23	0.8	5.9	143	4.2	104	3.8	9.2	0.4	0.16	0.25	7.1	*	4.9	25	32	95	186	354	162	42	76	113.5	*	*	37	7.6	3	131	30	96
13	86	32	0.8	7.2	142	4.2	105	4.2	9.5	0.34	0.12	0.39	7.2	*	4.8	23	26	93	159	119	155	49	93	127.6	*	*	33	9.9	3	121	27	99
14	95	37	0.9	6.1	140	4.2	103	2.9	9.2	0.5	0.23	0.28	7.6	3.1	4.3	20	26	79	165	66	136	39	96	67.4	*	*	22.6	9.7	2	140	35	51
15	85	25	0.9	4.9	143	4	100	3.9	8.8	0.36	0.16	*	8.3	*	4.6	14	20	84	210	72	182	41	81	128.2	*	*	33	8.4	3	126	36	57
16	95	13	0.9	5.8	141	4.3	102	3.6	9.5	0.9	0.1	*	7	*	4.5	18	25	69	199	155	168	77	196	125.8	*	*	115	11.3	3	212	49	69
17	85	24	0.9	3.6	145	4	103	3.9	9.4	0.5	0.1	*	7.3	*	4.6	25	24	75	154	149	241	62	92	176.4	*	*	35	11.3	4	132	29	112
18	77	35	0.8	4.8	143	4.2	105	3.5	9.5	0.4	0.16	*	7	*	4.3	17	31	89	149	165	150	49	94	112.3	*	*	19	8.2	2	127	32	70
19	79	19	0.9	8.8	149	4.3	106	3.9	8.9	0.6	0.19	*	6.8	*	4.8	49	86	106	156	132	305	52	541	129.4	*	108	78	9.7	9	132	36	132
20	72	45	0.9	5.2	143	4.1	99	3.4	8.4	0.4	0.23	*	7	*	4.5	29	36	75	138	147	162	56	220	114.8	*	*	17	8.7	3	166	38	86
21	81	29	0.8	6.1	142	3.9	103	3.8	8.8	0.5	0.28	*	6.3	1.9	4.4	23	32	69	142	152	251	61	92	184.6	6	23.4	29	12.3	3	159	28	92

Çizelge 3.13. Devamı

22	90	32	0.9	5.5	141	3.8	105	3.7	9.4	0.4	0.23	*	7	*	3.9	21	25	58	143	163	141	42	47	119.2	*	*	26	12.8	4	164	26	90
23	93	42	0.8	4.3	142	4.2	104	3.9	9.6	0.6	0.1	*	6.5	*	5	27	26	92	146	140	150	34	166	128	*	*	41	10.9	3	127	33	108
24	90	46	1	5.5	144	3.9	104	2.5	9.4	0.8	0.29	0.51	7.4	2.5	4.9	17	18	59	142	142	202	56	95	127	4	19	17	11.1	2	161	32	90
25	96	39	1	5.5	145	4.2	105	3.4	9.4	0.6	0.21	0.39	7	2.4	4.6	19	26	70	136	102	167	35	205	91	5	41	23	9.1	2	110	26	90
26	94	28	0.9	4.2	143	4.3	104	3.5	9.4	0.3	0.2	0.1	7.2	2.4	4.8	17	11	82	142	87	115	29	101	65.8	4	20.2	29	28.3	1	120	24	56
27	80	26	0.9	3.3	143	3.9	107	3.5	9.6	0.3	0.13	0.17	7.5	2.7	4.8	27	29	100	143	80	154	52	72	87.6	3	14.4	40	12.7	2	162	29	69
28	93	22	1	5.2	143	4	105	3.1	9.8	1.4	0.58	0.82	7.2	2.4	4.8	18	16	91	153	112	105	34	57	59.6	3	11.4	14	30.6	2	127	26	45
29	92	36	0.8	4.3	144	4.2	109	2.8	9.7	0.9	0.27	0.63	7.1	2.4	4.7	28	45	89	194	135	220	51	279	113.2	4	55.8	48	9.2	2	152	35	107
30	95	32	0.9	4.1	141	5	107	3.2	9.7	0.3	0.12	0.18	7.6	3	4.6	14	14	70	154	129	178	38	116	116.8	5	23.2	21	9.8	2	126	28	87
31	80	29	0.9	4.5	142	4.1	101	3.1	10.3	0.5	0.21	0.29	7.8	2.8	5	15	12	53	131	148	176	48	89	110.2	4	17.8	15	27.3	2	162	31	77
32	91	33	1	4.6	142	4.2	107	2.4	9.3	1.5	0.56	0.94	7.4	2.6	4.8	19	16	60	166	185	130	41	43	80.4	3	8.6	15	13.5	1	133	29	53
33	74	21	0.7	4.4	142	4	108	4.3	9.5	0.4	0.13	0.27	6.8	2.2	4.6	16	10	69	151	134	154	63	63	78.4	2	12.6	11	9.4	3	171	32	57
34	89	17	0.8	3.4	144	3.9	109	2.4	9.2	0.5	0.21	0.29	6.9	2.5	4.4	15	11	88	147	97	165	45	95	101	4	19	9	8.4	2	147	28	77
35	92	22	1	5.8	143	3.8	109	2.5	9.8	0.8	0.3	0.5	7.4	2.4	5	17	17	118	208	87	155	42	158	81.4	4	31.6	20	18.6	4	150	32	64
36	86	30	0.9	3.4	142	4	110	4.2	9.6	0.3	0.1	0.2	7	2.4	4.6	16	9	79	182	95	165	57	67	94.6	3	13.4	9	10.1	2	170	29	66
37	79	25	0.7	3.1	142	4.4	107	3.7	10	0.7	0.28	0.42	7.4	2.6	4.8	15	13	79	140	65	159	50	51	98.8	3	10.2	16	8.7	2	163	30	69
38	80	20	0.8	4.1	139	4.4	108	3.7	9.4	0.7	0.31	0.39	7.2	2.7	4.5	14	7	85	185	123	164	45	50	109	4	10	10	19.6	3	138	26	78
39	91	18	0.7	2.3	140	2.9	106	3.8	9.7	0.8	0.23	0.57	7.8	3.3	4.5	21	10	47	139	69	210	63	45	138	3	9	14	9.7	*	*	*	*
40	92	20	0.8	3.3	139	4.3	106	3.1	9.5	0.5	0.15	0.35	7.6	3.3	4.3	17	12	72	168	86	198	51	50	137	4	10	20	8.7	*	*	*	*
41	93	16	0.7	2.9	139	5.2	106	3.9	9.1	0.3	0.11	0.19	7.9	3.2	4.7	15	13	63	141	34	163	44	106	94.8	4	21.2	13	5.7	3	138	34	74
42	85	11	0.5	2.9	141	4.8	103	3.5	8.8	0.5	0.16	0.34	7.3	2.7	4.6	16	11	72	154	53	231	61	40	162	4	8.8	11	12.7	4	164	30	98
43	95	18	0.7	2.9	145	4.3	106	3.3	8.4	0.9	0.33	0.57	7.4	3	4.4	20	19	89	188	106	160	38	102	11.6	4	20.4	40	14.2	5	141	29	76
44	96	30	0.7	2	139	3.8	106	4.1	9.1	0.3	0.12	0.18	6.9	2.5	4.4	17	12	39	124	75	205	68	70	123	3	14	14	6.6	3	178	30	78
45	92	21	0.6	3.9	137	3.9	106	3.4	9	0.4	0.1	0.3	6.5	2	4.5	23	22	45	168	80	209	56	118	129.4	4	23.6	17	9.5	3	178	38	98
46	91	22	0.8	4.4	141	4.3	106	2.9	9.5	0.4	0.1	0.3	7.7	2.8	4.9	12	11	48	140	50	182	41	144	112.2	4	28.8	17	10.2	3	129	29	93
47	79	21	0.6	2.1	141	4.1	105	3.5	9.3	0.7	0.3	0.4	7	2.5	4.5	14	10	60	139	51	155	55	53	89.4	3	10.6	9	12.6	3	166	27	38
48	79	18	0.7	2.2	140	4.5	106	3.2	9.2	0.8	0.4	0.4	7.2	2.5	4.7	12	9	41	126	47	108	44	39	56.2	2	7.8	11	7.7	1	143	21	44

Çizelge 3.13. Devamı

49	93	19	0.8	3.2	140	4.4	104	4	9	0.6	0.26	0.34	8.3	3.6	4.7	16	9	45	153	96	173	58	56	103.8	3	11.2	10	11.1	4	165	27	71
50	101	17	0.7	2.9	142	4.1	103	3.2	9.7	1.8	0.6	1.2	7.1	2.4	4.7	13	13	43	122	40	154	58	75	81	3	15	9	5.4	2	170	27	64
51	92	24	0.9	3.9	141	3.9	102	3.8	9.4	0.5	0.21	0.29	7.7	3	4.7	16	11	95	161	70	142	64	31	71.8	2	6.2	9	10.6	3	153	31	45
52	80	20	0.8	4.1	142	4.4	108	3.7	9.4	0.7	0.31	0.39	7.2	2.7	4.5	14	7	85	185	123	164	45	50	109	4	10	10	19.6	3	138	26	73
53	88	22	0.8	4.4	144	4.1	106	3.5	9.5	0.3	0.1	0.2	7.1	2.6	4.5	13	12	35	125	50	218	58	171	125.8	4	34.2	12	7.2	3	215	40	108
54	92	20	0.7	2.9	145	4	108	4	9.3	0.4	0.2	0.2	7.2	2.4	4.8	16	15	57	128	67	121	49	33	65.4	2	6.6	12	7	3	155	27	42
55	88	25	0.7	3.4	140	5	103	4.4	9.7	0.7	0.3	0.4	8.4	3.5	4.9	22	13	54	166	87	232	72	78	144.4	3	15.4 6	15	10	4	202	40	88
56	120	26	0.8	3.9	148	4.1	107	2.9	9	0.4	0.2	0.2	7.4	2.7	4.7	20	14	70	212	167	168	52	50	106	3	10	12	7.9	3	170	28	68
57	92	15	0.8	2.1	140	4.1	104	3.2	9.6	0.5	0.18	0.32	7.6	3.2	4.4	18	11	46	138	54	140	48	57	80.6	3	11.4	12	7.2	4	162	30	60

3.4.2. FMF Hastalarının Hematolojik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması

Uludağ Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'ndan temin edilen FMF mutasyonlarını homozigot taşıyan, yaşları 4-50 arasında değişen 25 kadın, 3-39 arasında değişen 25 erkek hastanın hemogram ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması amacı ile çalışmamıza dahil edilmiştir. Her bir bireye ait cinsiyet, yaş ve ilgili kişilere ait sedim, fibrinojen ve hemogram değerleri tablo 3.12'de, karaciğer fonksiyon testleri, kan şekeri, böbrek fonksiyon testleri, lipid profili, protein ve albumin değerleri, tablo 3.13'de görülmektedir.

Çizelge 3.14 FMF homozigot mutant tanısı konmuş hastalara ait hemogram değerleri. İlk satırda araştırılan hemogram değerleri belirtilmiştir. Araştırılan kısaltılmış parametrelerin uzun isimleri şöyledir; *Sedim 1* "sedimentasyon 1 saat", *Hgb* "hemoglobin", *Hct* "Hematokrit", *MCV* "Mean Corpuscular Volume", *MCH* "Mean Corpuscular Hemoglobin", *MCHC* "Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration". *RDW* "Red cell Distribution Width, Eritrosit dağılım genişliği", *MPV* "Mean Platelet Volume", *WBC* "White Blood Cell, beyaz kan hücresi, lökosit", *Lenfosit %*, *Monosit %*, *Granülosit %* (lenfosit, esinofil ve bazofil). Hemogram parametre bilgileri bulunmayan "*" ile gösterilmiştir

Sıra NO	Sedi m 1 saat (mm/H)	Fibrinojen	Hgb g/dL	Hct %	MCV fL	MCH pg	MC HC g/d L	RD W %	MPV f/L	WBC K/ μ L	Len fosit %	Monosit %	Nötrofil %	Esino fil %	Bazofil %
1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
6	11	*	*	*	*	*	*	19	15.2	*	*	*	*	*	*
7		*	*	*	*	*	*	17	6.68	*	*	*	*	*	*
8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
9	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
10	29	*	*	*	*	*	*	7.04	*	*	*	*	*	*	*
11	52	*	*	*	*	*	*	7.86	*	*	*	*	*	*	*
12	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
13	31	*	*	*	*	*	*	15.9	7.21	*	*	*	*	*	*
14	12	*	*	*	*	*	*	17.1	7.3	*	*	*	*	*	*
15	31	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
16	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
17	4	4.1	12.1	36.9	74.4	24.4	32.7	15.8	10	3.83	39.5	14.6	*	*	*
18	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
19	*	*	*	*	*	*	33.2	16.4	11	5.36	60.1	68.4	*	*	*
20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
21	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
22	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
23	*	*	*	*	*	*	32.5	22.2	8.27	10.4	26.9	10.5	*	*	*
24	*	*	*	*	*	*	32	17.9	7.8	7.39	25.7	3.7	*	*	*
25	*	*	*	*	*	*	32.8	16.3	8.71	10.9	20.3	4.83			
26	*	*	*	*	*	*	33.6	13.3	8.36	10.6	25.5	9.17	64.8	0.13	0.41
27	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
28	*	*	8.94	30	58.5	16.8	28.8	15.9	9.27	6.39	59.4	6.74	29.7	2.85	1.33
29	20	5.6	10.6	33.8	66.9	21	31.4	19	8	4.86	38.8	5.7	51.8	2.52	1.19
30	12	4.4	11.2	34.6	73.2	23.6	32.3	14.9	7.6	8.53	36	7.7	48.6	3.3	0.8
31	*	*	11.6	34.8	79	26.3	33.3	15.8	8.53	21.1	12.7	3.9	82.7	0.3	0.4
32	53	7	10.9	33.8	72	23.1	32.1	15.7	7.5	6	38.2	5.9	52.3	0.4	0.6
33	16	3.2	12	37	72	22.9	31.8	20.3	8.57	6.31	35.5	7.24	55.1	1.37	0.72
34	*	5.7	15.2	44	80	27	33	17.7	10	6.11	51.5	7.72	37.9	1.79	1.15
35	24	*	9.2	20.3	72.6	24.6	33.8	15.1	6.9	8.3	53.4	4.8	36	1.9	0.9
36	*	*	12.5	17.3	68.6	23.6	33.6	15.9	6.8	8.96	13.2	4.6	79.7	0.8	0.5
37	11	6	13	37	80	29	36	14	7.6	6.88	15.2	4.1	79.2	0.2	0.4
38	60		8.8	28.2	65.3	20.4	31.3	21.9	7	11	38	3.7	54.9	2.8	0.5
39	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
40	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
41	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
42	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
43	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
44	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
45	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
46	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
47	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
48	*	*	11.7	35.2	74.7	27.8	33.2	15.5	7.51	28.9	6.3	5	88	0.37	0.25
49	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
50	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Çizelge 3.15: FMF Homozigot tanısı konmuş hasta bireylere ait bazı biyokimyasal parametreler. Tabloda belirtilen parametrelerin uzun isimleri şöyledir; GLU “ Glukoz”, URE “Üre”, CREA “Kreatinin”, UA “ürük asit”, Na “Sodyum”, Cl “Klor”, Ca “Kalsiyum”, T-Bil “ Total Bilirubin”, D-Bil “Direkt Bilirubin”, I-Bil “indirekt bilirubin”, TP “ Total Protein”, ALB “Albumin”, AST “aspartat aminotransferaz”, ALT “alanine aminotransferaz”, ALP “Alkale Fosfataz”, LDH “Laktaz Dehidrogenaz”, CPK “Kreatinin fosfokinaz”, CHOL “Kolesterol”, HDL “Yüksek dansiteli lipoprotein”, Trig “Trigliserit”, LDL “düşük dansiteli lipoprotein”, VLDL “ çok düşük dansiteli lipoprotein”. Test parametre bilgileri bulunmayan “*” ile ifade edilmiştir.

Sıra No	GLU (mg/dl)	URE (mg/dl)	CREA (mg/dl)	UA (mg/dl)	Na (meq/L)	K (meq/L)	Cl (meq/L)	Fosfor	Ca (mg/dl)	T-Bil	D-Bil	I-Bil	TP	Globin	ALB (g/dl)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	ALP	LDH	CPK	Chol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Trig (mg/dl)	Chol/LDH	Chol/HDL	VLDL	
1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
6	80	24	10	5	142	4.2	*	*	9.5	*	*	*	*	*	5.1	15	13	*	*	*	100	30	59	*	*	*	
7	61	11	0.5	2.1	139	4.4	102	4.5	89	0.5	0.23	0.27	6.9	3.1	3.8	61	80	237	369	20	123	30	107	71.6	4.1	21.4	
8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
9	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	177	255	107	*	*	*	*	*	*	
11	79	22	0.6	*	141	4	*	5.9	9.6	*	*	*	*	3.7	51	48	166	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
12	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
13	91	17	0.5	*	143	4.1	*	*	9.4	*	*	*	*	*	*	24	18	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
14	*	26	0.6	*	142	3.7	*	*	9.4	*	*	*	*	*	*	33	24	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
15	*	26	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	24	12	*	*	*	*	33	162	*	*	*	
16	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
17	93	9	0.7	5.3	139	3.8	103	4.2	9	0.6	0.2	0.42	7.1	2.4	4.7	22	23	265	151	88	125	46	60	67	2.7	12	
18	113	21	0.4		140	4.3	79	*	*	*	*	*	*	*	*	11	10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
19	83	21	0.4		140	3.8	98	*	*	*	*	*	*	*	*	44	58	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
21	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
22	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
23	90	30	0.6		141	4.2	93	*	*	*	*	*	*	*	*	21	14	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

Çizelge 3.15: Devami

Sıra No	GLU (mg/dl)	URE (mg/dl)	CREA (mg/dl)	UA (mg/dl)	Na (meq/L)	K (meq/L)	Cl (meq/L)	Fosfor	Ca (mg/dl)	T-Bil	D-Bil	I-Bil	TP	Globin	ALB (g/dl)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	ALP	LDH	CPK	Chol (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Trig (mg/dl)	Chol/LDH	Chol/HDL	VL DL		
24	96	12	0.6	2.5	140	4.2	103	5.1	9.9	0.3	0.14	0.18	8.9	4.5	4.4	16	10	126	260	47	153	36	124	92.2	4.2	24.8		
25	97	27	0.7	6	135	3.3	99	3.1	8.9	0.3	0.15	0.15	6.8	3.2	3.6	18	28	144	222	37	170	40	105	109	4.2	21		
26	86	34	0.8	6	143	4.6	106	3.4	10.1	1.1	0.3	0.8	7.8	*	5.2	27	84	93	248	282	153	45	59	*	*	*		
27	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
28	89	16	0.4	1.6	139	4.8	103	4.3	9.2	0.4	0.18	0.2	6.8	2.4	4.4	25	10	123	292	161	182	37	133	118.4	4.9	26.6		
29	96	20	0.6	2.9	142	4.2	103	5.1	9.7	0.3	0.1	0.2	7.3	2.6	4.7	30	10	194	232	86	164	48	110	94	3.4	22		
30	76	21	0.4	2.9	137	3.8	104	4.9	9.6	0.4	0.2	0.22	7.2	2.6	4.6	25	11	117	64	105	147	50	40	89	2.9	8		
31	129	24	0.9		138	3.6	*	*	8.9	0.9	0.46	*	*	*	*	24	12			*	*				*	*		
32	75	20	0.4		139	4.3	*	*	9.9	0.4	0.18	0.21	7.8	3	4.8	190	232	147	309	56	131	41	63	77.4	12.6	3.2		
33	92	18	0.6	2.8	142	4.4	106	4	10.2	0.3	0.1	0.2	7.6	2.6	5	20	14	177	270	53	116	38	108	56.4	3.1	21.6		
34	80	24	0.7	4.4	137	4.5		4.1	*	*	*	*	7	*	4.8	33	29	*	*	*	130	51	101					
35	93	35	0.4	2.6	135	4.4	102	4.8	9.2	0.02	0.1	0.1	7.5	2.8	4.7	22	10	176	196	63	180	44	84	119.2	4.1	16.8		
36	102	20	0.5	2.8	136	4	101	5	9.5	0.6	0.2	0.43	7.6	2.6	5	29	11	152	326	103	200	57	77	127.6	3.5	15.4		
37	88	31	0.8	3.9	137	3.8	*	*	8.9	*	*	*	7.3	*	4.7	24	13	65	173	*	*	*	*	*	*	*	*	
38	62	27	0.4	2.8	142	5	*	*	9.4	*	*	*	8.2	*	4.2	32	31	*	*	*		*	*	*	*	*	*	
39	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
40	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
41	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
42	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
43	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
44	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
45	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
46	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
47	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
48	103	22	0.5	*	137	3.8	*	*	8.8	*	*	*	*	*	*	23	10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
49	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
50	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

3.5. Kontrol Bireylerinin ve FMF Hastalarının Karşılaştırmalı Analizi

Kontrol grupları ve FMF hastaları istatistiki olarak ANOVA kullanılarak analiz edildiğinde tablo3.14'deki sonuçlar elde edilmiştir. Sağlıklı bireylerde ve FMF hastalarında tüm hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin ortalama, standart sapma, minimum, maximum ve p değerleri belirlenmiştir. 0.005'den küçük değerler istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir. p değerlerine bakılarak FMF hasta grubunda kontrol gruplarına göre fibrinojen, RDV, WBC, fosfor, AST, ALP ve LDH seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (çizelge 3.14). Bununla birlikte hemogram, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, Na, Cl, kolesterol ve HDL seviyeleri FMF hastalarında anlamlı olarak azalmıştır (çizelge 3.14).

Çizelge 3.16. Kontrol bireyleri ve FMF hastalarında ölçülen hemogram ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırmalı istatistiksel değerlendirilmesi

Biyokimya Parametreleri	KONTROL				FMF				Pdeğeri (Kon X Kan)
	Ort.	Standart Sapma	Minimum	Maximum	Ort.	Standart Sapma	Minimum	Maximum	
Fibrinojen	3.1	0.77	1.8	4.8	5.41	1.29	3	9.9	0*
Hemoglobin	14.08	1.68	9.44	16.5	11.36	1.77	8.8	15.2	0*
Hemotokrit	41.67	4.87	29.3	50.1	32.53	7.17	17.3	45	0*
MCV	83.34	6.77	48	91.2	72.09	6.17	58.5	87.2	0*
MCH	28.59	1.94	21.1	32.2	23.88	3.29	16.8	33.7	0*
MCHC	34.06	1.13	31.6	36.4	32.63	1.45	16.9	36	0*
RDV	14.7	1.51	12	19.7	16.14	3.48	7.04	22.2	0.011*
MPV	10.38	1.22	6.18	13.1	8.44	1.89	6.68	15.2	0.497
WBC	6.45	1.26	3.06	9.14	9.55	6.16	3.83	28.9	0.001*
Lenfosit %	34.32	5.83	21.8	48.5	33.12	16.22	6.3	60.1	0.636
Monosit %	7.83	1.74	2	13.1	9.9	14.86	3.7	68.4	0.3
Nötrofil %	54.53	7.44	32.7	70.3	58.52	19.02	29.7	82.7	0.319
Esinofil %	2.23	1.57	0.57	7.98	1.44	1.15	0.13	3.3	0.111
Bazofil %	0.8	0.37	0.183	1.9	0.7	0.35	0.25	1.33	0.41
GLU (mg/dl)	89.71	8.93	72	120	89.3	14.97	61	129	0.879
URE (mg/dl)	25.3	7.61	11	46	22.32	6.56	9	35	0.093
CREA (mg/dl)	0.89	0.47	0.5	1.2	0.95	1.93	0.4	10	0.815
Urik Asit (mg/dl)	4.44	1.49	2	8.8	3.57	1.43	1.6	6	0.045
Na (meq/L)	142.12	2.15	137	149	139.41	2.48	135	143	0*
Potasyum (meq/L)	4.19	0.34	2.9	5.2	4.13	0.4	3.3	5	0.496
Cl (meq/L)	105.04	2.34	99	110	100.14	6.95	79	106	0*
Fosfor	3.44	0.49	2.4	4.4	4.49	0.76	3.1	5.9	0*
Ca (mg/dl)	9.2	0.38	8.4	10.3	13.41	17.8	8.8	89	0.082
T-Bil	0.58	0.29	0.3	1.8	0.47	0.28	0.02	1.1	0.21
D-Bil	0.21	0.11	0.1	0.6	0.19	0.1	0.1	0.46	0.47
İndirekt-Bil	0.37	0.23	0.1	1.2	0.28	0.19	0.1	0.8	0.158
TP	7.32	0.43	6.3	8.4	7.45	0.57	6.8	8.9	0.336
Globin	2.69	0.38	1.9	3.6	2.95	0.62	2.4	4.5	0.066
ALB (g/dl)	4.64	0.23	3.9	5.1	4.6	0.44	3.6	5.2	0.634
AST (UI/L)	20.29	7.05	12	49	33.76	34.37	11	190	0.006*
ALT (UI/L)	22.73	16.3	7	86	32.6	46.66	10	232	0.16
ALP	71.98	18.8	35	118	157.3	51.6	65	256	0*
LDH	162.15	25.6	122	220	240.5	77.9	64	369	0*
CPK	113.22	66.28	34	409	92.92	67.9	20	282	0.324
Chol (mg/dl)	175.91	39.26	105	305	148.14	28.78	100	200	0.015*
HDL (mg/dl)	48.68	10.45	29	77	41.73	7.95	30	57	0.019*
Trig (mg/dl)	112.31	94.15	31	541	92.8	33.47	40	162	0.434
VLDL	21.22	18.1	6.2	108	17.53	7.28	3.2	26.6	0.512

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA/FMF) , tekrarlayıcı, otozomal resesif geçişli bir inflamatuvar hastalık olup, karın, göğüs ve eklem ağrılarına ateşin eşlik ettiği akut atak şeklindeki çeşitli serözit formlarıyla karakterizedir. En fazla Yahudiler, Ermeniler, Türkler ve Arapları etkileyen etnik kökene dayalı bir hastalıktır. Türk toplumunda FMF hastalığı ciddi bir taşıyıcılık oranına sahiptir. FMF'in ülkemizde görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5'tir. Hastalığın en korkulan yanı böbrek yetmezliğine neden olan amiloidoz ile komplike olmasıdır[1-3].

Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar ile hastalıktan sorumlu olan MEFV geninin 16. kromozomun kısa kolunda lokalize olduğu ve 781 amino asit uzunluğunda *pirin/marenostrin* olarak isimlendirilen ve nötrofiller, eozinofiller ve aktive olmuş monositlerin sitozollerinde ekspre edilen bir proteini kodladığı belirlenmiştir [2,7]. Pirin proteini, FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nötrofillerin aktivitesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol aldığı belirtilmektedir. Bu bulgulara rağmen kesin patojeni henüz anlayamamıştır.

Romatoid artrit gibi diğer kronik hastalarda olduğu gibi FMF'in de en korkulan komplikasyonu amiloidozdur ve tedavi edilmediği takdirde böbrek yetersizliğine ve ölüme yol açmaktadır. Amiloidoz daha çok hiç tedavi görmemiş ve hastalığı daha erken yaşta başlamış FMF hastalarında görülmektedir[123]. Klinikte tanı koymada büyük problemler yaşanan ve amiloidoz gibi ağır sonuçlara neden olan FMF hastalığının tanısında MEFV geni ile ilgili mutasyonların bulunmasının önemi ortaya çıkmaktadır.

MEFV geni 10 ekzondan oluşur ve bugüne kadar 76'dan fazla mutasyon tanımlanmıştır [21]. Türk toplumunda yapılan çalışmalarda, en sık karşılaşılan mutasyonlar E148Q, M680I, M694V ve V726A olarak bildirilmiştir.

FMF yurdumuzda sık gözlenen ve klinikte tanısı çoğu zaman güçlükle konabilen bir hastalık tablosudur. Klinik tanısı zor olan FMF hastalığının moleküler genetiğinin anlaşılması yönünde son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bir gene bağlı olarak ortaya çıkan ve 76 tane mutasyon rapor edilen bu hastalıkta aynı anda farklı mutasyonların tanısına izin veren yeni moleküler tanı testleri oldukça önemlidir. Son yıllarda 12 ayrı FMF mutasyonunun incelenmesine olanak kılan revers hibridizasyon tekniği bu anlamda oldukça kullanışlı bir teknik olarak ön plana çıkmıştır. Böylece FMF de en çok görülen 12 ayrı mutasyonun tanısına olanak kılan bu teknik aynı zamanda kombine heterozigotların tanısına da olanak kılmıştır.

Bu çalışmada, toplumumuzda en fazla mutasyon gözlendiği rapor edilen MEFV genine ait 4 mutasyon ayrıca Türk popülasyon çalışmalarında daha az yer verilmiş A744S, P369S, F479L, M694I, M680I G>A, K695R ve Türk literatürlerinde rastlamadığımız I692del ve R761H mutasyonları aynı anda 12 mutasyonu belirlemeye imkan tanıyan FMF strip assay ile taranmıştır.

Çalışmamızda FMF ön tanısı ile Uludağ Üniversitesi Merkez Laboratuvarına gönderilen 421 bireyde, sıklıkla gözlendiği rapor edilen mutasyonlarında dahil olduğu MEFV genine ait 12 mutasyonu aynı anda saptayabilen FMF strip assay ile taranmıştır. Elde edilen verilere göre hasta grubumuzun mutasyon taşıma oranı %40,4 olarak belirlenmiştir. Belirlenen mutasyonlar M694V %54, M680I G>C %17,6, E148Q %17,6, A744S %5,29 ve V726A %11,76, P369S %2,35, F479L %1,17, M694I %1,76, K695R %5,29 ve R761H %3,52 oranındadır. Çalışmamızda M680I G>A %0.0 ve I692del %0.0 mutasyonlarına rastlanılmamıştır. Sonuçlarımız literatürlerle kıyaslandığında M694V mutasyon oranı uyumlu olmasına rağmen diğer mutasyonlar açısından bulgularımız yüksektir. Bu çalışma ile elde edilen veriler, farklı Türk araştırmacıların rapor ettiği en sık rastlanılan mutasyonlara ilave olarak daha az sıklıkta görülen A744S, M680I G>A, P369S, F479L, M694I, K695R, I692del ve R761H mutasyonları için Türk toplumundaki görülme sıklıkları ile ilgili aynı zamanda 12 farklı mutasyonunun aynı anda görülme sıklığını ve birleşik heterozigotlarla ilgili bilgi vermektedir.

Ülkemizden yayınlanan birçok çalışmada Türklerde en sık M694V mutasyonunun görüldüğü gösterilmiştir. Akar ve arkadaşları, FMF tanısı ile izledikleri 230 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada mutasyonların sıklık sırasına göre M694V (%44), M680I (%12), V726A (%11), M694I (%3) olarak belirtilmiştir [209]. Bakkaloğlu'nun yaptığı bir çalışmada ise M694V %51, M680I %14, V726A %9 oranında saptanmıştır [3]. Topaloğlu ve arkadaşları ise mutasyon oranlarını M694V %51,2, M680I %9,2, V726A %2,9, E148Q, %3,6, M694I için %0,04 saptamışlardır [210]. Doğan Demir'in 123 hastadan oluşan çalışmasında ise M694V %57,7 ve M680I %5,7 oranında rapor edilmiştir [22]. Yeşilada ve ark. çalışmalarında P369S %2,69, F479L %0,54, M694I %1,08 ve K695R %1,08 olarak rapor edilmiştir [2]. Türk FMF Çalışma Grubunun 2005 yılında yayınladığı 2838 hastayı kapsayan bir çalışmada 1090 hasta allel frekansları açısından değerlendirilmiş, M694V %51,4, M680I %14,4, V726A %8,6 bulunmuştur [114].

Çalışmamızda homozigotların oranı %11,9 olup bu bireyler arasında homozigot olan mutasyonların dağılımı ise M694V %78, M680I G>C %10, E148Q %6, A744S %2 ve V726A %2 olarak belirlenmiştir.

Çeşitli mutasyonları homozigot, heterozigot ve birleşik heterozigot olarak taşıyan bireyler dikkate alındığında %54 oranında M694V mutasyonunu taşıyan bireye rastlanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda bu oran Türkler için %41–50 olarak belirtilirken Musevilerde %65 ve Araplarda %20 olarak rapor edilmiştir. FMF'e neden olan mutasyonların hastalık ağırlık skoru ile birlikte karşılaştırma çalışmalarında M694V mutasyonunu homozigot olarak taşıyan hastalarda hastalığın klinik seyrinin daha olumsuz olacağı belirtilmiştir. Ayrıca bu mutasyonu homozigot taşıyan bireylerde artrit ve erizipel benzeri eritem oranının da daha sık görüldüğü rapor edilmiştir. 1997'de Pras ve arkadaşlarının İsrail'de, 1998'de ise Dewalle ve arkadaşlarının Fransa'da yapmış oldukları çalışmalar sonucunda M694V mutasyonunu homozigot olarak taşıyan hastalarda, bu mutasyonu taşımayan hastalara göre hastalığın daha ağır seyrettiğini ve amiloidoz gelişim riskinin de daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır [24,61].

Çalışmamızda ikinci sıklıkla görülen M680I G>C mutasyonu %17,6 oranında bu mutasyonu taşıyan bireye rastlanılmıştır.

E148Q mutasyonunu ise Avrupa'da yaygın olarak belirtilirken ülkemiz için sıklığı %13 olarak rapor edilmektedir [2]. Bizim çalışmamızda ise bu oran %17,6 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyonun fenotipik etkisi ile ilgili bir çalışmada E148Q mutasyonu bakımından homozigot olan bireylerin hasta olmadığı, hastalığın ortaya çıkması için başka mutasyonların da olması gerektiği vurgulanırken bazı çalışmalarda ise bu mutasyonun FMF patofizyolojisinde rol oynadığı belirtilmektedir [2,212]. Tchernitchko ve ark. ise E148Q'nun polimorfik bir varyant olduğunu ve zararlı olmadığını belirtmektedir [208].

Sıklıkla Arap popülasyonlarında rastlanıldığı belirtilen A744S mutasyonu [131], Türk popülasyonunda %4,84 olarak rapor edilirken [2], bizim çalışmamızda bu oran %5,29 olarak belirlenmiştir.

V726A mutasyonuna Türk FMF hastalarında %8,6 sıklıkla rastlanıldığı belirtilmektedir [114]. Yeşilada ve ark. yaptığı benzer çalışmada bu oran %4,84 olarak bizim çalışmamızda ise %11,76 olarak belirlenmiştir [2]. Düşük etkili bir mutasyon olarak tanımlanmasına rağmen V726A amiloidoz gelişen hastalarda da rapor edilmiştir [131].

FMF ön tanılı hastalarda literatürlere göre Türkiye popülasyonunda bulunmayan yada daha az rastlanılan diğer mutasyonların oranı P369S %2,35, F479L %1,17, M694I %1,76, K695R %5,29 ve R761H %3,52 olarak belirlenmiştir. Bu oran Yeşilada ve ark. çalışmalarında P369S %2,69, F479L %0,54, M694I %1,08 ve K695R %1,08 olarak rapor edilmiştir. Çalışmamızda M680I G>A ve I692del mutasyonlarına rastlanılmamıştır. Bu sonuçlar bize Türk popülasyonunda bu mutasyonların daha seyrek görüldüğünü gösterir.

MEFV mutasyonlarını birleşik heterozigot olarak taşıyan bireylerin oranı %9,26 olarak tespit edilmiştir. Bu bireyler arasında mutasyonların dağılımı ise; M964V/V726 %25,65, M694V/K695R %2,56, M694V/M680I G>C % 20,51,

M694V/M694I % 2,56, M694V/A744S %5,13, M694V/R761H %2,56, M694V/E148Q %10,26, E148Q/ R761H %2,56, E148Q/P369S %2,56, E148Q/V726A %2,56, E148Q/M694I %2,56, E148Q/M680I G>C %7,69, M680I G>C/ F479L %2,56, M680I G>C/V726A %7,69, F479L/V726A %2,56 olarak belirlenmiştir. Birleşik heterozigot durumunun FMF'e neden olmadığı fakat hastaların bazılarında, klinik bulguların FMF tanısını desteklediği ve tedavi başlatıldığı belirtilmektedir.

Cinsiyetler açısından mutasyonların dağılımı değerlendirildiğinde FMF ön tanımlı hastalarımızın %49,64'ü erkek, %50,36'sı kadın idi. Kadınların %42,92'sinde ve erkeklerin %37,79'unda FMF mutasyonları tespit edilmiştir. Görüldü gibi taşıyıcılık oranı kadınlarda erkeklere göre daha fazladır. Sonuçlar FMF mutasyonlarını taşıyan kadınlar arasında değerlendirildiğinde M694V %52,74, M680I G>C %19,78, E148Q %16,48, A744S %2,19, V726A %9,89, P369S %3,29, F479L %1,09, M694I %2,19, K695R %5,49 ve R761H %4,39 oranında belirlenmiştir. FMF mutasyonlarını taşıyan erkeklerde ise bu oran M694V %55,69, M680I G>C %15,18, E148Q %18,98, A744S %8,86, V726A %13,92, P369S %1,26, F479L %1,26, M694I %1,26, K695R %5,06 ve R761H %2,53'dür.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 100 sağlıklı birey arasında MEFV mutasyonlarının dağılımı %17 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyonların dağılımı, M694V %1, E148Q %6, V726A %3, K695R %3, M694V/E148Q %1, E148Q/P369S %2, M680IG>A %1 ve mutasyon taşımayan bireyler ise %83'dür. Dikkat çekici bir nokta, sağlıklı bireylerde saptanan mutasyonlar ile hasta gruplarında var olan mutasyonların birbirlerinden farklı olmasıdır. Sağlıklı bireylerde E148Q (%6) mutasyonundan sonra en sık saptanan mutasyonlar V726A (%3) ve K695R (%3)' dir. Bu durum E148Q mutasyonunun düşük penetransı ile açıklanabilir; sonuçta hastalık oranı da daha az olmaktadır.

FMF hastaları, ataklar arasında semptomsuz olmalarına rağmen, subklinik inflamasyonu ataksız periyotlar süresince devam eder. Proinflamatuvar genotipin, koroner kalp hastalık riskine önemli derecede neden olduğu bilinmektedir. MEFV

mutasyonları şiddet ve komplikasyonları ile kardiyovasküler hastalıkları etkileyebilirler [7].

Son yıllarda özellikle FMF ve romatoid artrit vakalarında yapılan çalışmalar ışığında inflamasyonun kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığı artırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle kronik ve inflamatuvar birçok hastalıkta kardiyovasküler hastalıkların üzerine etkileri güncel araştırma konuları olmuştur.

Kardiyovasküler hastalıklara neden olan genler, dünya çapında hastalık ve ölümün en önemli nedenleridir. Bu nedenle bu genler bireyin daha uzun yaşamasına karşıt bir rol oynamalıdır. Gerçekten inflamasyon, aterosklerozun bir anahtar bileşenidir. Bu yüzden inflamatuvar ya da anti-inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler gelişen ateroskleroz riskini görüntülemek için iyi bir belirteçlerdir. Yüksek inflamatuvar molekül üretimini düzenleyen genel gen polimorfizmleri ateroskleroz ile ilişkilidir [125].

Bu bilgilerden yola çıkarak bizde çalışmamızda, FMF mutasyonlarını homozigot taşıyan bireylerde kardiyovasküler risk oluşturabilecek 12 farklı polimorfizmi inceledik. Türk popülasyonu üzerinde yapılan çalışmada, en sık görülen 12 FMF mutasyonu bakımından genotipleri belirli, hemogram ve biyokimyasal parametre değerleri belirli FMF mutasyonlarını homozigot taşıyan 50 hasta ve 100 sağlıklı bireye ait genomik DNA örnekleri kullanılmıştır. Uludağ Uludağ Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'ndan FMF mutasyonlarını homozigot taşıyan, yaşları 4-50 arasında değişen 25 kadın, 3-39 arasında değişen 25 erkek hasta çalışmamızda kardiyovasküler riske neden olan bazı polimorfizmleri belirlemek amacı ile çalışmamıza dahil edilmiştir. Ağırlıklı olarak homozigot M694V olmak üzere, M680I G/C, E148Q, A744S ve V726A mutasyonlarını taşıyan FMF hastaları ile çalışma yürütülmüştür. FMF hastalarının ve sağlıklı bireylerin 12 farklı kardiyovasküler riske neden olan polimorfizmleri CVD strip assay ile belirlenip karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.5. ve tablo 3.6.'da daha önce özetlendiği gibi kardiyovasküler riske neden olan polimorfizmlerin, herhangi bir kardiyovasküler hastalığa sahip olmayan

sağlıklı bireyler arasında değerlendirildiğinde Faktör V Leiden mutasyonunun taşıyıcılık oranı %7 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyonun taşıyıcılık oranı FMF hastalarında %8'dir. Bu oran Faktör V Leiden mutasyonu için daha önceki yapılan çalışmalarla uyumludur.

Faktör V Leiden (FVL) mutasyonunun sıklığı normal popülasyonda ortalama %4-6 olarak bildirilmekle birlikte, sağlıklı Türk popülasyonundaki yüzdesi ise %7.1-9.1 olarak bildirilmiştir. Avrupa'nın değişik popülasyonlarında yapılan çalışmalarda %2-15 gibi farklı sıklıklar bildirilmiştir. [136]. Bu mutasyon, genel olarak beyaz ırkta daha yaygın olarak görülürken Asya ve Afrika toplumlarında daha seyrek görülmektedir. FVL, Orta doğuda Araplarda ve Yahudilerde de görülmektedir [141,142]. Faktör V Leiden (FVL) mutasyonu taşıyan bireylerde venöz tromboz, periferik vasküler hastalıklar, felç, pulmoner embolizm görülme riski artmaktadır. FVL mutasyonu ayrıca tekrarlayan düşük, ikinci ve üçüncü trimester gebelik kayıpları, pre-eklampsisi, plasental abrusyon, intrauterin gelişme geriliği ile de ilişkili bulunmuştur. Genel popülasyon ile karşılaştırıldığında, heterozigot FVL mutasyonu taşıyan bireylerde tromboz riski 7 kat, homozigot taşıyıcılarda ise 10-80 kat arttığı gözlenir.

Faktör V Leiden mutasyonunun etkilerinden daha azına sahip olan FV H1299R mutasyonu sağlıklı bireylerde taşıyıcılık oranı % 13'dür. Bu bireylerin %1'i homozigot iken %12'si heterozigottur. FMF hastalarında ise taşıyıcılık oranı %2'si homozigot olmak üzere %14 olarak bulunmuştur.

Kalıtsal trombofililer arasında ikinci sıklıkta görülen protrombin (faktor II) G20210A gen mutasyonudur. Hem sağlıklı birey hem de FMF hastaların da bu mutasyonu taşıma oranı %4'dür. Protrombin G20210A gen mutasyonu Avrupa ülkelerinde daha sık görülmektedir. Sağlıklı Türk popülasyonunda ise %2,6 olarak rapor edilmiştir. Protrombin G20210A gen mutasyonu olanlarda tromboz için relatif risk 2-6 kat artmıştır [152].

Val34Leu mutasyonunun neden olduğu faktor XIII A alt ünitesinin fibrin-stabilize edici aktivitesindeki değişim son zamanlarda trombozun patofizyolojisinin

bir parçası olduğu belirtilmektedir. FXIII eksikliğinde şiddetli kanama söz konusudur. Val34Leu polimorfizminin popülasyonun yaklaşık %25'inde görüldüğü rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda bu polimorfizmin oranı sağlıklı bireylerde homozigot %3, heterozigot %29 olmak üzere %31 taşıyıcılık oranı belirlenmiştir. FMF hastaların da, homozigotlar %6, heterozigotlar ise %22 olmak üzere %28 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında FMF hastalarında Val34Leu mutasyonunu homozigot taşıma oranı sağlıklı bireylere göre 2 kat artmıştır.

Fibrinojen seviyeleri hem genetik faktörler hem de inflamasyon hastalıkları ve akut faz cevabı gibi çevresel faktörler ile kontrol edilmektedir [158]. Miyokart enfarktüs ve felç gibi arteryal hastalıklar ile ilişkilendirilen yükselmiş fibrinojen seviyeleri beta-fibrinojen -455 G/A polimorfizmi tarafından etkilenmektedir. Çalışmamızda sağlıklı bireylerde bu polimorfizmin dağılımı homozigot %7, heterozigot % 31 iken FMF hastalarında homozigotların dağılımı %6, heterozigotlar ise %44 olarak belirlenmiştir. FMF hastalarında taşıyıcılık oranı oldukça yüksektir. -455 G>A polimorfizmi bazı çalışmalarda koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilmektedir ve arteryal hastalıklarla genotip-hastalık ilişkisinin çok az delili vardır [162]. Bununla birlikte fibrinojen mutasyonları klinik olarak genellikle sessiz ya da kanama diyatezi ile ilişkilidir.

PAI-1 geninin 4G/5G delesyon insersiyon promoter polimorfizmleri tanımlanmıştır. 4G alleli, 5G alleli ile karşılaştırıldığında yükselmiş mRNA transkripsiyonu sergilediği rapor edilmiştir [166]. 4G genotipi PAI-1'in daha yüksek plazma konsantrasyonu ile ilgilidir [153,167]. Çalışmamızda 4G/4G genotipli sağlıklı birey %22, 4G/4G genotipli FMF hasta oranı %32 olarak belirlenmiştir. PAI-1 4G/4G sağlıklı bireylere göre 4G/4G FMF hastalarının oranı daha yüksek bulunmuştur. Son aylarda yapılan FMF'in gelişimi ve şiddeti üzerine koagülasyon mekanizmalarının etkilerini gösteren bir çalışmaya göre, PAI-1 aktivitesinin FMF'li hastalarda daha yüksek ifade edildiği ve PAI-1 aktivite ölçümü FMF'li hastalarda bir belirteç olabileceği rapor edilmiştir [131]. Sonuçlarımız bu çalışmayı destekler niteliktedir. FMF hastalarında PAI-1 aktivitesinin artışı 4G/4G genotipinden dolayı olabilir. Sağlıklı bireylerde 4G/5G genotipi %48, 5G/5G %30, FMF hastalarında 4G/5G %40 ve 5G/5G %28 olarak belirlenmiştir.

Trombosit kümesinin oluşumunda anahtar bir rol oynayan ve bu sayede pıhtı aktivasyon durumunu düzenleyen glikoprotein IIIa (GpIIIa, HPA-1) geninde L33P polimorfizmi oluşmaktadır. Bu polimorfizm erken yaşta akut koroner olaylara, miyokart enfaktüs ve felce yatkınlıkla ilişkilendirilmektedir. Normal allel *a*, mutant allel *b* olarak ifade edilir. Çalışmamızda sağlıklı bireylerde *a/a* genotip oranı %68, *a/b* %28 ve *b/b* %4 olarak, FMF hastalarında ise *a/a* genotip oranı %80, *a/b* %20 ve *b/b* %0 olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre Türk popülasyonunda *b/b* genotip frekansı oldukça düşüktür.

Homosisteine seviyesinin yükselmesine ve folat seviyesinin düşmesine neden olan MTHFR mutasyonları, vasküler hastalıkların ve nöral tüp defektlerin ortaya çıkma riskini artırır. Çalışmamızda sağlıklı bireylerde C677T polimorfizmini homozigot taşıyan bireyler % 12, heterozigot bireyler %36 olarak belirlenmiştir. FMF hastalarında ise homozigot bireyler %10, heterozigot bireyler %36 olarak belirlenmiştir. MTHFR'nin 2. varyantı olan A1298C polimorfizmi, sağlıklı bireylerde homozigot taşıyanlar %11, heterozigot taşıyanlar %41'dir. FMF hastalarında A1298C homozigot bireyler %10, heterozigot bireyler %42 olarak belirlenerek FMF ve sağlıklı bireyler her 2 polimorfizm açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Plazma ACE (anjyotensin dönüştürücü enzim) aktivitesi bir kişide kararlı olmasına rağmen, ACE geninde meydana gelen insersiyon/delesyon sonucu kişiler arasında oldukça değişiklik gösterir. Plazma ACE düzeyleri *DD* genotipine sahip hastalarda *II* genotipine sahip olanların yaklaşık iki katı kadardır [192]. Bulgularımızda sağlıklı bireylerde ACE-*DD* genotip %30, *ID* genotip %38 ve *II* genotip % 22 olarak belirlenmiştir. FMF hastalarında ise *DD* genotip % 42, *ID* genotip %42 ve *II* genotip %16 olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre FMF hastalarında *DD* genotipinin görülme oranı sağlıklı bireylere göre oldukça yüksektir. ACE *DD* genotipinin varlığı diyabetik nefropati, hipertansiyon, arteriyel duvar kalınlığı, renal arter hastalıkları, kardiyomiyopatiler, koroner ve karotis aterosklerozu için bir göstergesi olduğu düşünülürse FMF hastalarında bu risk oldukça yüksektir. Ayrıca ACE gen polimorfizmi, fibrinolizde azalma ve trombosit

agregasyonunda artışı ile yakınlığı göz önünde bulundurulursa MEFV gen mutasyonlarının etkisini artırdığı düşünülebilir. ACE geninin ID polimorfizmi ise yapısal arteryel değişiklikler ile ilişkilidir [193] .

APOB, LDL'nin ana apolipoproteinidir ve LDL reseptörü için ligand görevi yapar. APO B geninde ilk bulunan ve çok yaygın olan substitusyon Apo B100 arg 3500 trp'dir. Çalışmamızda sağlıklı ve FMF grubunda bu polimorfizme rastlanılmamıştır. Kafkas populasyonunda arg3500gln mutasyonunun prevalansının %8 olduğu rapor edilmiştir. Güney Asya populasyonunda ise daha sıktır [171].

Lipid metabolizmasında anahtar bir role sahip ApoE, düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) den oluşmuştur ve kolesterolün karaciğerden vücut dokularına ulaşmasına arabuluculuk eder. Apo E geninin izoformları nedeniyle bu polimorfizm 6 Apo E fenotipiyle sonuçlanmaktadır; homozigot E2/2, E3/3, E4/4 ve heterozigot E3/2, E4/2, E4/3. Bulgularımızda sağlıklı bireylerde APOE 2/3 %13, APOE 2/4 %3, APOE3/3 %71 ve APOE 3/4 %13 oranında belirlenmiştir. FMF hastalarında ise APOE 2/3 %4, APOE3/3 %90 ve APOE 3/4 %6 olarak belirlenmiştir. Bütün populasyonlarda apoE-e3 allellinin en yaygın olduğu saptanmıştır. Avrupada, populasyonun %95'i en az bir apoE-e3 allelli, %27'si en az bir apoE-e4 ve %16'sı en az bir apoE-e2 allelli taşır [204].

Prokoagülant, doku faktörleri, tromboz ve fibrinolize neden olabilen bazı polimorfizmlerin ve FMF hastalarında ataklar sırasında sık rastlanılan lökositoz, eritrosit sedimantasyon hızındaki artış ve akut faz yanıtta yükselen fibrinojen değerleri ile arasında korelasyonu belirlemektir.

Çalışmamız sonucunda; FMF hastaları ve sağlıklı bireylerde fibrinojen ve hematolojik parametre değerleri, karaciğer fonksiyon testleri, kan şekeri, böbrek fonksiyon testleri, lipid profili, protein ve albumin seviyeleri gibi biyokimya testlerinin ortalama, standart sapma, minimum, maximum ve p değerine belirlenmiştir. 0.005'den küçük değerler istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Birçok çalışmada, FMF hastalarında akut faz reaktantlarından olan fibrinojenin kontrol grubuna göre önemli derecede farklı olduğu rapor edilmiştir. Bizimde çalışmamızda fibrinojen seviyesi, FMF hastalarında kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek ($p>0$) tespit edilmiştir.

Tüm hemotolojik parametre değerleri sağlıklı bireyler ve FMF hastaları arasında karşılaştırıldığında, hemogram ($p>0$), hematokrit ($p>0$), MCV ($p>0$), MCH ($p>0$) ve MCHC ($p>0$) değerleri anlamlı olarak azalırken, RDV ($p>0,011$) ve WBC ($p>0,001$) anlamlı olarak artış göstermiştir. FMF hastaları ve sağlıklı bireylerde WBC değeri istatistiksel olarak artış göstermiştir. Fakat FMF hastalarında WBC değeri, laboratuvar normal değerleri içinde olduğundan dolayı önemsiz sayılabilir.

Tüm biyokimyasal parametreler FMF ve sağlıklı gruplar arasında karşılaştırıldı. Kolesterol ($p> 0,015$), HDL ($p> 0,019$), Na($p>0$) ve Cl ($p>0$) anlamlı olarak azalırken, fosfor ($p> 0$), AST ($p>0,006$), ALP ($p>0$) ve LDH ($p>0$) FMF hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Fakat ALP hariç anlamlı kabul ettiğimiz parametreler, laboratuvar normal değerleri içinde olduğundan dolayı önemsiz sayılabilir.

Çalışmamızda, MEFV mutasyonlarını homozigot taşıyan FMF hastalarında anlamlı bulduğumuz PAI-1, ACE I/D, beta-fibrinogen -455G>A ve FXIII V34L gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili polimorfizmler, FMF’de görülen belirtilerin şiddetini artırıyor olabilirler. Bu yüzden FMF hastalarında bu gibi polimorfizmlerin araştırılması anlamlı olabilir. Fakat bu alanda daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

Türk popülasyonunda yaygın olarak bulunan birçok hastalığın ve risk faktörlerinin belirlenmesinde mutasyonların tespiti büyük önem taşımaktadır. Hastalıkların multifaktoriyel pek çok gene dayalı mutasyonlara dayanması, aynı anda pek çok mutasyonların moleküler olarak tespitini gerekli kılmıştır. Özellikle mutasyonların sayısının 76’dan fazla olduğu FMF gibi Türk popülasyonunda yaygın olarak görülen hastalıkların moleküler seviyede çoklu olarak mutasyonların tespit edilmesinde kolay ve iş gücü az olan yöntemlere gereksinim giderek artmaktadır. Şuana kadar yapılan moleküler çalışmalarda kullanılan yöntemler sadece tek bir

polimorfizm araştırmasına olanak sağlamakta ve zaman kaybına yol ağmaktaydı. Bu amaçla son yıllarda popöler olarak kullanılan yöntemlerden birisi Reverse-Hibridizasyon yöntemidir.

Yöntemin en önemli avantajı, diğer moleküler tekniklere göre rutin de kullanılabilmesi için otomatize edilmiş ve daha kısa zamanda çok az DNA örneğinden tek işleme birden fazla polimorfizm sonuçlarını aynı anda verebiliyor olmasıdır. Bunun yanında PCR'da karşılaşılan optimizasyon ve kontaminasyon sorunları tamamen ortadan kaldırılmış ve altın standart DNA dizi analizi ile karşılaştırıldığında %99.6 güvenilirlik belirlenmiştir. Bu sebeplerden dolayı hastane ve laboratuvar gibi rutin çalışan merkezlerde bu gibi yöntemlerin tercih edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1.] El-Shanti H., Abdel Majeed H., El-Khateeb M., 'Familial Mediterranean fever in Arabs', *Lancet* 367: 1016–24 (2006)
- [2.] Yeşilada E., Savacı S., Yüksel Ş., Gülbay G., Otlı G., Kaygusuzoğlu E., 'Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları', *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 5;12(4):235-238 (2005)
- [3.] Bakkaloğlu A., 'Familial Mediterranean fever', *Pediatr Nephrol.* 18:853-859 (2003)
- [4.] Örün E., Yalçınkaya F., 'Türk Tıbbında Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı ve Amiloidoz', *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi I Official Journal of the Turkish Society of Nephrology* 12 (1) 1-7 (2003)
- [5.] Ergüven M., Üçel R., Cebeci N., Pelit M., 'Ailevi Akdeniz Ateşi'nin demografik, klinik ve genetik özellikleri ile tedaviye yanıtı: 120 vakalık tek merkez deneyimi' *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 49:283-290 (2006)
- [6.] Samuels J, Aksentijevich İ, Torosyan Y, et al. 'Familial Mediterranean fever at the Millennium Clinical spectrum ancient mutations and a survey of 100 American referrals to the National institutes of Health. *Medicine* 77:268-97 (1998)
- [7.] Grimaldi M., Candore G., Vasto S., Caruso M., Caimi G., Hoffmann E., Colonna-Romano G., Lio D., Shinar Y., Franceschi C., Caruso C., 'Role of the pyrin M694V (A2080G) allele in acute myocardial infarction and longevity: a study in the Sicilian population' *Journal of Leukocyte Biology*, (2006)
- [8.] Gök, E., 'Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısı İle İzlenen Prepubertal Çocuklarda Kemik Mineral İçeriğinin Değerlendirilmesi', Uzmanlık Tezi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, (2006)
- [9.] Soher E, Gafni J, Pras M et al. 'Familial Mediterranean Fever; A survey of 470 cases and review of the literature', *Am J Med*, 227-53 (1967)
- [10.] Majeed HA, Barakat M, 'Familial Mediterranean Fever in children: analysis of 88 cases', *Eur. J Pediatr* 148:636-41 (1989)

- [11.] Tekin M, Yalçinkaya F, Turner N, et al. 'Familial Mediterranean fever and acute rheumatic fever: A pathogenetic relationship?' *Clin Rheumatol* 18:446-449. (1999)
- [12.] Aksu G., Ozturk C., Kavakli K., Genel F., Kutukculer N., 'Hypercoagulability: interaction between inflammation and coagulation in familial Mediterranean fever', *Clin Rheumatol*;26: 366–370 (2007)
- [13.] Demirel A, Celkan T, Kasapcopur O, Bilgen H, Ozkan A, Apak H, Arisoy N, Yıldız I. Is Familial Mediterranean Fever a thrombotic disease or not? *European Journal of Pediatrics* (2007)
- [14.] Janeway TC, Mosenthal HC. 'An unusual paroxysmal syndrome. Probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism!', *Trans Assoc Am Phys*;23:504-18.
- [15.] Siegal S. 'Benign paroxysmal peritonitis', *Ann Intern Med* 23:1-21 (1945);
- [16.] Reimann HA, 'Periodic disease. Probable syndrome including periodic fever, benign paroxysmal peritonitis, cyclic neutropenia and intermittent arthralgia', *JAMA* 136:239. (1948)
- [17.] Mamou H., La Maladie Periodique. L'Expansion Scientifique Française.Paris,(1956)
- [18.] Heller H., Sohar E., Sherf L., 'Familial Mediterranean fever', *Arch Int Med*; 102:50 (1958)
- [19.] Sohar E, Pras M, Heller J, et al., 'Genetics of familial Mediterranean fever (FMF)', *Arch Int Med.*;107:109-118. (1961)
- [20.] Kavak U.S., Özen S., 'Ailesel Akdeniz Ateşi', Hacettepe Ü. Tıp Fak. Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nefroloji Ün., *sted* 12, 4,137 (2003)
- [21.] Goulielmos G.N., Fragouli E., Aksentijevich I., Sidiropoulos P., Boumpas D.T., Eliopoulos E., 'Mutational analysis of the PRYSPRY domain of pyrin and implications for familial mediterranean fever (FMF)', *Biochemical and Biophysical Research Communications* 345 ,1326–1332 (2006)
- [22.] Doğan Demir A., 'Çocukluk Çağı Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklerin Belirlenmesi ve Bu Özelliklerle Sık Görülen Mutasyonlar Arasındaki İlişkilerin Araştırılması', Uzmanlık Tezi, İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul (2007)
- [23.] Doğanavşargil E, Keser G., 'Ailesel Akdeniz Ateşi', *Klinik Romatoloji*, İstanbul, Deniz Matbaası, Ege Romatoloji;467-474. (1999)

- [24.] Pras E, Langevitz P, Livneh A et al. Genotype-phenotype correlation in familial mediterranean fever (a preliminary report). In: Sohar E, Gafni J, Pras M, eds. *Familial Mediterranean Fever*. Tel Aviv: Freund Publishing House, 260–4 (1997)
- [25.] Kone-Paut I, Dubuc M, Sportouch J, et al. Phenotype-genotype correlation in 91 patients with Familial Mediterranean Fever reveals a high frequency of cutaneomucous features. *Rheumatol*;39:1275-1279. (2000)
- [26.] Michaeli D, Pras M, Rosen N. Intestinal strangulation complicating familial Mediterranean fever (FMF). *B Med J*;2:30-2 (1966)
- [27.] Desnick RJ. The porphyrias. In: In Isselbacher KJ, ed. *Harrison's principle of internal medicine*, 13. edition New York: Mc Graw Hill, 2073-79. (1994)
- [28.] Ben-Chetrit, Levy M. FMF. *Lancet*;351:659-64 (1998)
- [29.] Livneh A, Langevitz P, Zemer D et al. The changing face of familial mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum* ;26:612-27 (1996)
- [30.] Cazeneuve C, Sarkisian T, Pecheux C, et al. MEFV-gene analysis in Armenian patients with familial mediterranean fever: diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype-genetic and therapeutic implications. *Am J Hum Genet*;65:88-97 (1999)
- [31.] Pras ER, Livneh A, Balow JE Jr, Pras El, et al. Clinical differences between North African and Iraqi Jews with familial Mediterranean fever. *Am J Med Genet.*;75:216-19 (1998)
- [32.] Majeed HA, Rawashdeh M, El Shanti H, Qubain H, Khuri-Bulos, Shahin M. Familial Mediterranean fever in children: the expanded profile. *Q J Med*;92:309-18 (1999)
- [33.] Majeed HA, Quabazard Z, Hijazi Z, Farwana S, Harshani F. The cutaneous manifestations in children with familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis). A six year study. *Q J Med*;75:607-16 (1990)
- [34.] Flatau E, Kohn D, Schiller D et al. Schönlein-Henoch syndrome in patients with FMF. *Arthritis Rheum*;25:42-47 (1982)
- [35.] Livneh A. Diagnostic and Treatment concern in familial mediterranean fever. *Bailliere's Clinical Rheumatology*. Tel Hashomer Israel 14;3:477-93 (2000)
- [36.] Gedalia A, Adar A, Garadischer R. Familial mediterranean fever in children *J Rheumatology*;19:35:1-9 (1992)
- [37.] Ehr enfeld M, Brzezinski A, Levy M Eloakim M. Fertility and obstetric history in patients with familial Mediterranean fever on long term colchicine therapy. *Br J Obstet Gynaecol*;94: 1186-91 (1987)

- [38.] Rabinovitch O, Zemer D, Kukia E, sohar E, Mashiach S. Colchicine treatment in conception and pregnancy; Two hundred thirty-one, pregnancies in patients wiht familial Mediterranean fever. Am J Reprad Immunol;28:245-46 (1992)
- [39.] Shiora M, Taniguchi S, Masumoto J, Yasui K, Koike K, Komiyama A, Sagara J. ASC, which composed of a PYD and CARD, is up-regulated by inflamation and apoptosis in human neutrophils. Biochem Biophys Res Commun .;293:1314-1318 (2002)
- [40.] Eliakim M, Levy M, Ehrenfeld M. Laboratory examinations. In: Recurrent Polyserositis (familial Mediterranean fever, periodic disease). Amsterdam: Elsevier North Hollan.:37-95 (1981)
- [41.] Celkan T, Çelik M, Kasapçopur Ö, et al. The anemia of familial Mediterranean fever disease. Ped Hematol Oncol;22:657-665 (2005)
- [42.] Özel A, Demirtürk L., Yazgan Y., Familial Mediterranean Fever. A review of the disease and clinical and laboratory findings in 105 patients. Dig Liver Dis;32:504-9 (2000)
- [43.] Matzner Y, Brezizinski A. C5a-inhibitor deficiency in peritoneal fluids from patients with Familial Mediterranean Fever N Engl J Med, 311:287-290 (1984).
- [44.] Zemer D, Livneh A, Danon Y, Pras M. Long term colchicine treatment in children with familial mediterranean fever. Arthritis Rheumatism,34:973-7 (1991)
- [45.] Ben-Cherit E, Levy M. Colchicine Semin Arthritis Rheumatism;28:48-56 (1998)
- [46.] Famaey JP. Colchicine in therapy. State of art and new perspectives for an old drug. Clin. Experiment Rheumatol;6:305-17 (1998)
- [47.] Özlü S. G. ‘Ailevi Akdeniz Ateşi Olgularında Gen Mutasyonlarının Hastalık Ağırlık Skorlaması İlişkisi; Kolşisin Tedavisinin Kan B12 Vitamini Düzeylerine Etkisinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul (2006)
- [48.] Özkan E, Okur O, Ekmekci A, Ozcan R, Tag T. A new approach to the treatment of periodic fever.Med Bull İstanbul :44-49 (1972).
- [49.] Sütülpınar, N.: Türkiye’ de yetişen ve sonbaharda çiçek açan *Colchicum* türlerinin kolşisin ve demekolşin yönünden araştırılması. Doçentlik Tezi, İstanbul (1981).

- [50.] Baytop, T.: Türkiye’ de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Ü. Yayınları No: 3255-Eczacılık Fak. Yayınları No: 40, İstanbul,(1984)
- [51.] Kedar I, Ravid M, Sohar E et al. Colchicine inhibition of casein –induced amyloidosis in mice. *Isr J Med*;10:787-9 (1974)
- [52.] The international FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause Familial Mediterranean Fever. *Cell*;90:797-807 (1997).
- [53.] The French Familial Mediterranean Fever Familial Mediterranean fever Consortium: A candidate gene for FMF. *Nat Genet*;17:25-31 (1997).
- [54.] Tekin M, Yalçınkaya F, Turner N, et al. Familial Mediterranean fever and acute rheumatic fever: A pathogenetic relationship? *Clin Rheumatol*;18:446-449 (1999).
- [55.] Mansfield E, Chae JJ, Komarow HD, Brot TM, Frucht DM, Askentijevich I, et al. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalises with actin filaments. *Blood*;98:85 (2001).
- [56.] Bernot A, da Silva C, Petit J.L., Cruaud C, Caloustian C, Castet V, Ahmed-Arab M, Dross C, Dupont M, Cattan D, Smaoui N, Dode C, Pecheux C, Nedelee B, Medaxian J, Rozenbaum M, Rosner I, Delpesch M, Gratenaud G, Demaille J, Weissenbach J, Touitou I. Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF). *Hum Mol Genet*;7:1317-1325 (1998) .
- [57.] Centola M, Wood G, Frucht DM, et al. The gene for familial Mediterranean fever, *MEFV*, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood*; 95: 3223–31 (2000).
- [58.] Matzner Y, Abedat S, Shapiro E, et al. Expression of the familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures. *Blood*; 96: 727–31 (2000).
- [59.] Touitou I. The spectrum of familial Mediterranean fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet*; 9: 473–83 (2001).
- [60.] Al-Alami JR, Tayeh MK, Najib DA, et al. Familial Mediterranean fever mutation frequencies and carrier rates among a mixed Arabic population. *Saudi Med J*; 24: 1055–59 (2003)
- [61.] Dewalle M, Domingo C, Rozenbaum M, et al. Phenotype genotype correlation in Jewish patients suffering from Familial Mediterranean fever: Evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. *Eur J Hum Gene*;6:95-97 (1998).

- [62.] Yalçmkaya F, Çakar N, Mısırlıoğlu M, et al. Phenotype genotype correlation in a large group of Turkish patients with Familial Mediterranean fever: Evidence for mutation independent amyloidosis. *Rheumatology*.;39:67-72 (2000).
- [63.] Tekin M, Yalçmkaya F, Çakar N, et al. MEFV mutations in multiplex families with Familial Mediterranean fever: Is a particular genotype necessary for amiloidosis? *Clin Genet*;57:430-437 (2000).
- [64.] Booth DR, Gillmore JD, Booth SE, et al. Pyrin/Marenostrin Mutations in Familial Mediterranean fever. *Q J Med*;91:630-636 (1998).
- [65.] Özen, S., Besbas, N., Bakkaloğlu, A., Yılmaz, E.:Pyrin Q148 mutation and familial Mediterranean fever. *QJM* 95: 332-333, (2002).
- [66.] Tüzün A, Dursun A, Ateş Y, Kataş B, Güran Ş, Uygun A, Soysal Y, İmirzalıoğlu N, Dağalp K. Ailesel Akdeniz Ateşi Düşünülen 110 Vakada Sık Görülen MEFV gen Mutasyonları Analiz Sonuçları ve Klinik Bulgularla Korelasyonu. *Gülhane Tıp Dergisi* 46 (3) : 238 - 241 (2004)
- [67.] Yu J-W, Wu J, Zhang Z, Data P, Ibrahimi I, Taniguchi S, Sagara J, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Cryopyrin and pyrin activate caspase-1, but not NF-κB, via ASC oligomerization. *Cell Death and Differentiation*;13: 236–249 (2006).
- [68.] McDermott M. F. A common pathway in periodic fever syndromes *TRENDS in Immunology* 25;9 (2004).
- [69.] Wang, L. et al. PYPAF7, a novel PYRIN-containing Apaf1-like protein that regulates activation of NF-κB and caspase-1-dependent cytokine processing. *J. Biol. Chem.* 277;29874–29880 (2002)
- [70.] Manji, G.A. et al. PYPAF1: A PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-κB. *J. Biol. Chem.*:277;11570–11575 (2002).
- [71.] Shoham N.G, Centola M. et al. Pyrin binds the PSTPIP1_CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *PNAS*,100; 23;13501–13506 (2003)
- [72.] Bertin, J. & DiStefano, P. S. *Cell Death Differ.* 7, 1273–1274 (2000) .
- [73.] Staub, E., Dahl, E. & Rosenthal, A. *Trends Biochem. Sci.* 26, 83–85 (2001) .
- [74.] T Pawson and P Nash. Protein-protein interactions define specificity in signal transduction. *Genes & Development.*14(9):1027–1047 (2000).
- [75.] K Hofmann. The modular nature of apoptotic signaling proteins. *Cellular and Molecular Life Sciences.*;55(8-9):1113–1128 (1999).

- [76.] E Liepinsh, R Barbals, E Dahl, A Sharipo, E Staub, and G Otting. The death-domain fold of the ASC PYRIN domain, presenting a basis for PYRIN/PYRIN recognition. *Journal of Molecular Biology*.;332(5):1155–1163 (2003).
- [77.] A GMurzin, S E Brenner, T Hubbard, and C Chothia. SCOP: a structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures. *Journal of Molecular Biology*.;247(4):536–540 (1995).
- [78.] Ting J.P.Y,Kastner D.L., Hoffman H.M. CATERPILLERS, pyrin and hereditary immunological disorders *NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY* MARCH,6;183-195 (2006)
- [79.] McDermott, M. F. Genetic clues to understanding periodic fevers, and possible therapies. *Trends Mol. Med.* 8, 550–553 (2002).
- [80.] Langevitz P, Livneh A, Neumann L., Buskila D., Shemer J., Amolsky D., Pras M. Prevalence of Ischemic Heart Disease in Patients with Familial Mediterranean Fever. *Isr Med Assoc J.* 3(1):9-12 (2001).
- [81.] Chae, J.J. et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol. Cell* 11, 591–604 (2003).
- [82.] Srinivasula, S. M., Poyet, J. L., Razmara, M., Datta, P., Zhang, Z. & Alnemri, E. S. *J. Biol. Chem.*;277, 21119–21122 (2002).
- [83.] Richards, N., Schaner, P., Diaz, A., Stuckey, J., Shelden, E., Wadhwa, A. & Gumucio, D. L. *J. Biol. Chem.* 276, 39320–39329 (2001).
- [84.] Wang, L., Manji, G. A., Grenier, J. M., Al-Garawi, A., Merriam, S., Lora, J. M., Geddes, B. J., Briskin, M., DiStefano, P. S. & Bertin, J. *J. Biol. Chem.*;277, 29874–29880
- [85.] Martinon, F., Burns, K. & Tschopp, J. *Mol. Cell*, 10, 417–426 (2002).
- [86.] Richards, N. *et al.* Interaction between pyrin and the apoptotic speck protein (ASC) modulates ASC-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*;276, 39320–39329 (2001).
- [87.] Özel A, Demirtürk L., Yazgan Y., Familial Mediterranean Fever. A review of the disease and clinical and laboratory findings in 105 patients. *Dig Liver Dis*, 32:504-9 (2000).
- [88.] French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever *Nature Genet*;17: 25-31 (1997) .
- [89.] Babior, B.M. and Matzner, Y. *New Engl. J. Med.*, 377, 1548-1549 (1997) .

- [90.] Direskeneli H, Ozdogan H, Korkmaz C Akoglu T, Yazici H. Serum soluble intercellular adhesion molecule-1 and IL-3 levels in FMF. *J Rheumatol* (1999).
- [91.] Üstek D., Ekmekci C.G. et al. Association Between Reduced Levels of *MEFV* Messenger RNA in Peripheral Blood Leukocytes and Acute Inflammation *ARTHRITIS & RHEUMATISM* 56;1;345–350 (2007)
- [92.] Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, et al. The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1_β production. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103:9982–7 (2006).
- [93.] Notarnicola C, Didelot MN, Kone-Paut I, Seguret F, Demaille J, Touitou I. Reduced *MEFV* messenger RNA expression in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*;46:2785–93 (2002).
- [94.] Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, Wood G, Raben N, Liu PP, et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cell*;11:591–604 (2003).
- [95.] Notarnicola C, Didelot MN, Kone-Paut I, Seguret F, Demaille J, Touitou I. Reduced *MEFV* messenger RNA expression in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*;46:2785–93 (2002).
- [96.] Sartori et al. *Thromb Haemost*;86:1161 (2001)
- [97.] Turkcapar N.,Tuncalı T., Kutlay S., Yalcin Burhan B., Kinikli G., Erturk Ş., Duman M. The contribution of genotypes at the *MICA* gene triplet repeat polymorphisms and *MEFV* mutations to amyloidosis and course of the disease in the patients with familial Mediterranean fever *Rheumatol Int*;27:545–551 (2007)
- [98.] Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL et al Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible *MICA*. *Science*;285:727–729 (1999)
- [99.] Wu J, Song Y, Bakker ABH, Bauer S, Spies T, Lanier LL et al An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science*,285:730–732 (1999)
- [100.] Medlej-Hashim M. et al. Amyloidosis in familial Mediterranean fever patients: correlation with *MEFV* genotype and *SAA1* and *MICA* polymorphisms effects *BMC Medical Genetics*, 5;1-6 (2004)
- [101.] Goto K, Ota M, Ando H, Muziki N, Nakamura S, Inoue K et al *MICA* gene polymorphisms and HLA-B27 subtypes in Japanese patients with HLA-B27 associated acute anterior uveitis. *Invest Ophtalmol Vis Sci*;39:634–637 (1998)

- [102.] Hassan AB, Nikitina-Zake L, Padyukov L, Karlsson G, Gupta M, Lundberg IE et al MICA4/HLA-DRB1*04/ TNF1 haplotype is associated with mixed connective tissue disease in Swedish Patients. *Hum Immunol*;64:290–296 (2003).
- [103.] Mizuki N, Ota M, Kimura M, Ohno S, Ando H, Katsuyama Y et al Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behçet's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:1298–1303 (1997).
- [104.] Cohen R, Metzger S, Nahir M, Chajek-Shaul T Association of the MIC-A gene and HLA-B51 with Behçet's disease in Arabs and non-Ashkenazi Jews in Israel. *Ann Rheum Dis*,61:157–160 (2002).
- [105.] Kawabata Y, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Hotto M, Ueda H et al Age-related association of MHC class I chain-related gene A (MICA) with type 1 (insuline-dependent) diabetes mellitus. *Hum Immunol*, 61:624–629 (2003).
- [106.] Huang F, Lee Y, Chen M, Hsu C, Lin S, Sung T et al Polymorphisms of transmembrane region of MICA gene and Kawasaki disease. *Exp Clin Immunogenet*, 17:130–137 (2000).
- [107.] Touitou I, Picot MC, Domingo C, Notarnicola C, Cattan D, Demaille J et al The MICA region determines the Wrst modiWer locus in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 44:163–169 (2001).
- [108.] Baba S, Takahashi T, Kasama T, Shirasawa H: Identification of two novel amyloid A protein subsets coexisting in an individual patient of AA-amyloidosis. *Biochim Biophys Acta*, 1180:195-200 (1992).
- [109.] Sipe JD, Colten HR, Goldberger G, Edge MD, Tack BF, Cohen AS, Whitehead AS: Human serum amyloid A (SAA): Biosynthesis and postsynthetic processing of preSAA and structural variants defined by complementary DNA. *Biochemistry*, 24:2931-2936 (1985).
- [110.] Booth DR, Booth SE, Gillmore JD, Hawkins PN, Pepys MB: SAA1 alleles as risk factors in reactive systemic AA amyloidosis. *Amyloid*, 5(4):262-265 (1998).
- [111.] Gershoni-Baruch R, Brik R, Zachs N, Shinawi M, Lidar M, Livneh A: The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*, 48(4):1149-1155 (2003).
- [112.] Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Roudot-Thoraval F, Geneviève D, Mndjoyan E, Papazian M, Sarkisian A, Babloyan A, Boissier B, Duquesnoy P, Kouyoumdjian JC, Girodon-Boulandet E, Grateau G, Sarkisian T,

Amselem S: Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever. *Am J Hum Genet*, 67:1136-1143 (2000).

[113.] www.turkpediatri.com

[114.] Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever in Turkey; Results of a Nationwide Multicenter Study. *Medicine*;84:1-111 (2005).

[115.] Shohat M, Magal M, Shohat T, et al. Phenotype genotype correlation in Familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Gene.*; 7:287-292 (1999).

[116.] Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, et al. MEFV mutation analysis in patients suffering from Familial Mediterranean fever. *Amiloid*. 6:1-6 (1999).

[117.] Brik R, Shinawi M, Kepten I, et al. Familial Mediterranean fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and arap patients. *Pediatrics*, 103:e70 (1999).

[118.] Yalçınkaya F, Çakar N, Mısırlıoğlu M, et al. Phenotype genotype correlation in a large group of Turkish patients with Familial Mediterranean fever: Evidence for mutation independent amyloidosis. *Rheumatology*, 39:67-72 (2000).

[119.] Tekin M, Yalçınkaya F, Çakar N, et al. MEFV mutations in multiplex families with Familial Mediterranean fever: Is a particular genotype necessary for amyloidosis? *Clin Genet* 57:430-437 (2000).

[120.] Goldfinger S.E. Colchicine for Familial Mediterranean Fever. (Letter) *New Eng J Med*;287:1302 (1972).

[121.] Benson MB, Cohen AS. Serum amyloid A protein in amyloidosis, rheumatic and neoplastic diseases. *Arthritis Rheum* , 22:36-42 (1972).

[122.] Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Roudot-Throval F et al. Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial mediterranean fever. *Am J Hum Genet* 67:1136-1143

[123.] Prof. Dr. Meral Çalgüneri Romatoid artrit *Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç hastalıkları, Romatoloji Bilim Dalı*

[124.] Biasucci LM, Viterlli A, Liuzzo G, Almaturo S, Caligiuri G, Monaco C, Rebuzzi AG, Giliberto G, Maseri A. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation*;94:874-7 (1996).

[125.] Candore G, Colonna-Romano G, Balestrieri CR, Di Carlo D, Grimaldi MP, Listi F, Nuzzo D, Vasto S, Lio D, Caruso C: Biology of longevity: role of the innate immune system. *Rejuvenation Res*, 9(1):143-148 (2006).

[126.] Caruso C., Candore G., Colonna-Romano G., et al. Inflammation and life-span. *Science*,307:208-209 (2005).

- [127.] Candore G., Balistreri CR., Grimaldi MP., et al. Opposite role of pro-inflammatory alleles in acute myocardial infarction and longevity: result of studies performed in the Sicilian Population. *NY Acad Sci* (2006)
- [128.] Munro JM, Cotran RS. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab Invest*, 58:249-61 (1988).
- [129.] Blum A, Vardinon N, Kaplan G, Laniado S, Yust I, Burk M, Miller H. Autoimmune and inflammatory responses may have an additive effect in postpercutaneous transluminal coronary angioplasty restenosis. *Am J Cardiol*, 81:339-41 (1988).
- [130.] Libby P., Ridker P.M., Maseri A., Inflammation and Atherosclerosis *Circulation*, 105;1135-1143 (2002).
- [131.] Medlej-Hashim M, Loiselet J, Lefranc G, Megarbane A. Familial Mediterranean Fever (FMF): from diagnosis to treatment *Sante*.14:261-6 (2004).
- [132.] Esmon CT Inflammation and thrombosis. *J Thromb Haemost*, 1:1343–1348 (2003).
- [133.] Akdogan A, Calguneri M, Yavuz B, Arslan EB, Kalyoncu U, Sahiner L, Karadag O, Ertenli I, Kiraz S, Aytemir K, Akata D, Tokgozoglu L, Oto A. Are familial Mediterranean fever (FMF) patients at increased risk for atherosclerosis? Impaired endothelial function and increased intima media thickness are found in FMF. *J Am Coll Cardiol*.,5;48(11):2351-3 (2006).
- [134.] Ulutin T, Cengiz M, Yüksel A, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü Tıbbi Biyoloji Ders Notları 1, Nobel Tıp Kitapevleri, 45-109 (2000).
- [135.] Sılan F., Zafer C. Faktör V Leiden Mutasyonu. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 1: 33-36 (2004).
- [136.] Eskandari G, Demirkan F, Esskandari MM, Yazar M, Sucu N, Aydın S, Atik U: Cerrahi Girişim Yapılacak Hastalarda Factor V Leiden ve Protrombin G20210A Mutasyonlarının Prevalansı. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 4:389-392 (2002)
- [137.] Uçar F, Ovalı E, Önder E, Değer O, Özdemir F: Faktör V Lieden Biyokimyası Genetiği, Risk grupları ve Moleküler Düzeyde Tayini. *İbni Sina Tıp Dergisi* 6:60-65 (2001).
- [138.] Dahlback B, Carlsson M, Svenson PJ: Familial thrombophilia due to a previously unrecognized characterized by poor anticoagulant response to activated Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:1004-1008 (1993).

- [139.] Basaran N: Faktör V Leiden Mutasyonu. Anadolu Kardiyoloji Dergisi;1(4):246 (2001)
- [140.] Kujovich JL:(Last update 20.05.2004) Factor V Leiden Thrombophilia In: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Copyright, University of Washington, Seattle. (1997-2004).
- [141.] Lucotte G, Champenois T: Duplex PCR-RFLP for simultaneous detection of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A, Mol. Cell. Probes 17(5);267-269 (2003).
- [142.] Lucotte G, Mercier G: Population Genetics of Factor V Leiden in Europe. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 27(2):362-367 (2001).
- [143.] Reiner AP, Rosendaal FR, Reitsma PH, Lemaitre RN, Pearce RM, Friedlander Y, Raghunathan TE, Psaty BM, Siscovick DS: Factor V Leiden, Prothrombin G20210A and Risk of Sudden Coronary Death in Apparently Healty Persons.The American Journal of Cardiology 90:66-68 (2002).
- [144.] Inbal A, Freimark D, Modan B, Chetrit A, Matetzky S, Rosenberg N, Dardik R, Baron Z, Seligsohn U: Synergistic Effects of Prothrombotic Polymorphisms and Atherogenic Factors on the Risk of Myocardial Infarction in Yaung Males. Blood, 93(7):2186-2190, (1999).
- [145.] Wu HB, Tsongalis GJ:Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. Am J Cardiol. 15;87(12):1361-6,(2001).
- [146.] Dönmez Y, Kanadası M, Tanrıverdi K, Demir M, Demirtaş M, Çaylı M, Alhan C, Baslamışlı F: Prothrombin 20210GA and factor V Leiden mutations in patients less than 55 years old with myocardial infarction. Jpn Heart J. 45(3):505-12, (2004).
- [147.] Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL: A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. Blood 1;90 (5):1747-50, (1997).
- [148.] Segev A, Ellis MH, Segev F, Friedman Z, Reshef T, Sparkes JD, Tero J, Puzner H, David D: High prevalence of thrombophilia among young patients with myocardial infarction and few conventional risk factors. International Journal of Cardiology , 98: 421-424, (2005).
- [149.] Bayra N, Altınışık J, Somay G, Ulutin T: Factor V Leiden mutation in cerebrovascular disease. Clin. Appl. Thrombosis Hemostasis 11(2), (2005).
- [150.] Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated

with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*; 88:3698-703, (1996).

- [151.] Goodnight SH, Griffin JH. Hereditary thrombophilia. In: Beutler E, Lichtman MA., eds. *Williams Hematology*. 6th ed. McGraw-Hill, 1697-1714 (2000).
- [152.] Kafkas S., Kadıköylü G., Gebelikte Kalıtsal Trombofili *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*; 6(2) : 43 – 50, (2005).
- [153.] Lane, D.A. & Grant, P.J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood*, 95, 1517-1532, (2000)
- [154.] Tuddenham EGD, Cooper DN. *The Molecular Genetics of Haemostasis and Its Inherited Disorders*. Oxford: Oxford University Press; (1994)
- [155.] Mikkola H, Syrjala M, Rasi V, et al. Deficiency in the A- subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on novel transcript levels. *Blood*. 84:517–525 (1994)
- [156.] Kohler HP, Arlens RAS, Whitaker P, Grant PJ. A common coding polymorphism in the factor XIII A-subunit gene (FXIIIVal34Leu) affects cross linking activity. *Thromb Haemost*. 80:704 (1998).
- [157.] Catto AJ, Kohler HP, Coore J, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ: Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. *Blood*. 93:906 (1999).
- [158.] Humphries SE, Cook M, Dubowitz M, Stirling Y, Meade TW. Role of genetic variation at the fibrinogen locus in determination of fibrinogen concentrations. *Lancet*.;1:1452–1455 (1987).
- [159.] Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 2:533–537 (1986).
- [160.] Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D’Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *JAMA*. 258:1183–1186 (1987).
- [161.] Dalmon J, Laurent M, Courtois G. The human b-fibrinogen promoter contains hepatocyte nuclear factor 1-dependent interleukin-6-responsive element. *Mol Cell Biol*. 13:1183, (1993).
- [162.] De Maat MPM, Kastelein JJP, Jukema JW, et al. 2455G/A polymorphism of the b-fibrinogen gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis in symptomatic men: proposed role for an acute-phase reaction pattern of fibrinogen. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 18:265–271 (1998) .

- [163.] Blackwell Science Ltd, Gene Polymorphisms of the Haemostatic System and the Risk of Arterial Thrombotic Disease. *British Journal of Haematology* 115: 49-506 (2001)
- [164.] Ariens, R.A., Philippou, H., Nagaswami, C., Weisel, J.W., Lane, D.A. & Grant, P.J. The factor XIII polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. *Blood*, 96, 988-995 (2000).
- [165.] Cesari, M. & Rossi, G.P. Plasminogen activator inhibitor type 1 in ischemic cardiomyopathy. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19, 1378-1386 (1999).
- [166.] Dawson, S.J., Wiman, B., Hamsten, A., Green, F., Humphries, S. & Henney, A.M. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in hepG2 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 10739-10745 (1993).
- [167.] Burzotta, F., Di Castelnuovo, A., Amore, C., D'Orazio, A., Di Bitondo, R., Donati, M.B. & Iacovello, I. 4G/5G promoter PAI-1 polymorphism is associated with plasmatic PAI-1 activity in Italians: a model of gene environment interaction. *Thrombosis and Haemostasis*, 79, 354-358 (1998).
- [168.] Ossei-Gerning et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17:33 (1997).
- [169.] Lowe et al. *Thromb Haemost.* 79:129 (1998).
- [170.] Slowik A, Dziedzic T, Turaj W et al A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males. *Stroke* 35(7):1589–1593 (2004).
- [171.] Yılmaz Ş., Bayan K., Tüzün Y., Batun S., Altıntaş A., A comprehensive analysis of 12 thrombophilic mutations and related parameters in patients with inflammatory bowel disease: data from Turkey *J Thromb Thrombolysis* 22:205–212 (2006).
- [172.] Homberger G, Linnebank M, Winter C, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Hum Genet*, 8:725-729 (2000).
- [173.] Sartori et al. *Thromb Haemost.* 86:1161 (2001)
- [174.] Weiss et al. *New Engl J Med.* 334:1090 (1996).
- [175.] Homberger G, Linnebank M, Winter C, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Hum Genet*, 8:725-729 (2000).

- [176.] Bagley PJ, Jacob S. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Med Sci*, 95:13217-13220 (1998).
- [177.] Bailey LB, Duhaney RL, Maneval DR, et al. Vitamin B-12 status is inversely associated with plasma homocysteine in young women with C677T and/or A1298C methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *J Nutr*, 132:24665-24709 (2002).
- [178.] Dikmen M., Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla İlişkisi *Kocatepe Tıp Dergisi The Medical Journal of Kocatepe Afyon Kocatepe Üniversitesi* 5: 9 (2004).
- [179.] Kim Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: A paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev*, 58:205-217 (2000).
- [180.] Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*, 64: 169-172 (1998).
- [181.] Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: *Am J Epidemiol*, 151: 862-77 (2000).
- [182.] Szczeklik A, Sanak M, Jankowski M, et al. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: Risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet*, 101:36-39 (2001).
- [183.] Dekou V, Whincup P, Papacost O, et al. The effect of C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British Region Heart Study. *Atherosclerosis*, 154: 659-666 (2001).
- [184.] Lievers KJA, Boers GHJ, Verhoef V, et al. A second common variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine and cardiovascular disease risk. *Journal of Molecular Medicine* Received, (2001).
- [185.] Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 13(1):20-33 (2000).
- [186.] Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Med Sci*, 96:12810-12815 (1996).
- [187.] Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EMB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects. *Am J Hum Genet*, 62:1044-1051 (1998).

- [188.] Hooper WC, Dowling NF, Wenger NK, Dilley A, Ellingsen D, Ewatt BL. Relationship of venous thromboembolism and myocardial infarction with renin-angiotensin system in African-Americans. *Am J Hematol*, 70:1-8 (2002).
- [189.] Baudin B. New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease. *Clin Chem Lab Med*, 40 (3): 256-265 (2002).
- [190.] Hessner MJ, Dinauer DM, Kwiatowski R, Neri B, Raife TJ. Age depended prevalance of vascular disease associated polymorphism among 2689 volunteer blood donors. *Clin Chem*, 47:1879-1884 (2001).
- [191.] Molner GA, Wagner Z, Melegh B, Koszegi T, Degrell P, et al. Effect of ACE gene polymorphism on carbohydrate metabolism, on oxidative stres and on end-organ damage in type-II diabetes mellitus. *Orv Hetil*, 145(16): 855-859 (2004).
- [192.] Tseng CH, Tseng CP. Lack of association between angiotensinconverting enzyme gene polymorphism and peripheral vascular disease in type 2 diabetic patients in Taiwan. *Circ J*. 66:1014-1018 (2002).
- [193.] Cambien F, Poirouer O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*, 359: 641-644 (1992).
- [194.] Başar Y., Ayalp K., Venöz Tromboembolizmin Plazma ACE Düzeyleri ve ACE gen Polimorfizmi ile İlişkisi *Turkish J Vasc Surg*. 15 (1): 1-6 (2006).
- [195.] Fisher E., Scharnag H. et. al., Mutations in the Apolipoprotein (apo) B-100 Receptor-binding region: Detection of apo B-100 (Arg35003Trp) Associated with Two New Haplotypes and Evidence That apo B-100 (Glu34053Gln) Diminishes Receptor-mediated Uptake of LDL *Clinical Chemistry*, 45:71026–1038 (1999).
- [196.] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232:34–47 (1986).
- [197.] Kane JP, Havel RJ. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, and Valle D, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*, 7th ed. New York: McGraw- Hill, 1853–86 (1995).
- [198.] Myant NB. *Cholesterol metabolism, LDL, and the LDL receptor*. San Diego: Academic Press, 465 (1990).
- [199.] Soria LF, Ludwig EH, Clarke HRG, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B100. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 86:587–91(1989).

- [200.] Gaffney D, Reid JM, Cameron LM, Vass K, Caslake MJ, Shepherd J, Packard CJ. Independent mutations at codon 3500 of the apolipoprotein B gene are associated with hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb.*15:1025-9 (1995).
- [201.] Gaffney D, Hoffs MS, Cameron IM, Stewart G, O'Reilly DSJ, Packard CJ. Influence of polymorphism Q3405E and mutation A3371V in the apolipoprotein B gene on LDL receptor binding. *Atherosclerosis*,137:167-74 (1998)
- [202.] Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B: identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity *J Clin Investig*, 95:1225-34 (1995).
- [203.] Öztürk Ş. Apolipoprotein E ve Alzheimer Hastalığı DEMANS Dizisi, 1:62-67 (1999).
- [204.] Mahley RLV Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*, 240:622-629 (1988).
- [205.] Poirier J, Davignon J, Bouthillier D et.al. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet*, 342:697-699 (1993).
- [206.] Delague et al. Reverse-Hybridization vs. DNA Sequencing in the Molecular Diagnosis of Familial Mediterranean Fever *GENETIC TESTING* 8:1 (2004).
- [207.] Oberkanins C. et.al. Genetic Testing for Familial Mediterranean Fever in Austria by Means of Reverse-Hybridization Teststrips, *Clinical Chemistry*. 49:1948-1950 (2003).
- [208.] Tchernitchko D. et al. Clinical Evaluation of a Reverse Hybridization Assay for the Molecular Detection of Twelve MEFV Gene Mutations, *Clinical Chemistry*, 49: 1942 - 1945 (2003).
- [209.] Akar N, Mısırlıoğlu M, Yalçmkaya F, Akar E, Çakar N, Turner N, Akçakut M, Taştan H, Matzner Y. MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean fever. *Hum Mut. Wiley- Liss.Inc.*(1999)
- [210.] Topaloğlu R, Özaltın F, Yılmaz E. E148Q is a disease causing MEFV mutation: a phenotypic evaluation in patients with familial Mediterranean fever. *Ann. Rheumatic Dis.* (2004).
- [211.] Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever in Turkey;Results of a Nationwide Multicenter Study. *Medicine* 84:1-111 (2005) .