TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİNDE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA GEN POLİMORFİZMİNİN HASTALIĞIN ORTAYA ÇIKIŞI VE KLİNİK SEYRİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Dr. Ferhat GÖKAY

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gülay KINIKLI

ANKARA
2008

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİNDE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA GEN POLİMORFİZMİNİN HASTALIĞIN ORTAYA ÇIKIŞI VE KLİNİK SEYRİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Dr. Ferhat GÖKAY

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gülay KINIKLI

ANKARA
2008

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana yardımcı ve yol gösterici olan tez danışmanım Prof. Dr. Gülay KINIKLI'ya teşekkürü bir borç bilirim. Öğrenimime büyük emekleri geçen başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necati ÖRMECİ olmak üzere, tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmamın yürütülmesinde bana her türlü destek ve yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Elyesa Karaca'ya, Doç. Dr. Aşkın ATEŞ'e ve Biyolog Dr. Türker DUMAN nezdinde tüm immünoloji laboratuvarı çalışanlarına, tezimin istatistik değerlendirmesinde bana yardımcı olan Zeynep BIYIKLI'ya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı'ndaki ihtisasım süresince birlikte çalışma imkanı bulduğum tüm İç Hastalıkları asistan ve uzman doktorlarına, eğitimim süresince bana maddi ve manevi açıdan her türlü yardımı sağlayan annem Ayşe GÖKAY, babam Şakir GÖKAY, iyi ve kötü günümde her zaman yanımda olan sevgili eşim Songül GÖKAY'a ve biricik kızım Ayşegül'e sevgilerimi ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ferhat Gökay

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	**i**
Önsöz	**ii**
İçindekiler	**iii**
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	**v**
Şekiller Dizini	**vi**
Tablolar Dizini	**vii**
1. GİRİŞ	**1**
1.1. Amaç	**2**
2. GENEL BİLGİLER	**3**
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi	**3**
2.1.1. Tanım	**3**
2.1.2. Tarihçe	**3**
2.1.3. Prevalans ve Demografik Özellikler	**3**
2.1.4. Patogenez	**4**
2.1.5. Klinik	**8**
2.1.5.1. Ateş	**9**
2.1.5.2. Abdominal Ataklar	**9**
2.1.5.3. Artrit Atakları	**10**
2.1.5.4. Plörit Atakları	**10**
2.1.5.5. Cilt Bulguları	**11**
2.1.5.6. Skrotal Ataklar	**11**
2.1.5.7. Vaskülit	**12**
2.1.5.8. Renal Tutulum	**12**
2.1.5.9. Diğer Semptom ve Bulgular	**13**
2.1.6. AAA' da Klinik Tanı ve Tanısal Kriterler	**13**
2.1.6.1. AAA'da Hastalık şiddetinin Değerlendirilmesi	**15**
2.1.7. AAA'da Laboratuar	**17**
2.1.8. Ayırıcı Tanı	**17**
2.1.9. Tedavi	**19**

2.1.10. Prognoz **20**
2.2. Tümör Nekrozis Faktör Alfa **21**
2.2.1. TNF-α Gen Polimorfizmleri **21**
2.3. AAA ve TNF-α **25**
3. GEREÇ VE YÖNTEM **28**
3.1. Hasta Seçimi ve Kayıtların tutulması **28**
3.2. TNF-α -238 ve -308 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi **28**
3.2.1. DNA'nın Elde Edilmesi **29**
3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) **29**
3.2.3. Kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi (RFLP) **30**
3.2.4. PCR ve RFLP Sonuçlarının Elektroforez Sonrasında Agaroz Jelde İncelenmesi **32**
3.3. İstatistik Analizi **32**
4. BULGULAR **33**
5. TARTIŞMA **59**
6. SONUÇ **67**
7. ÖZET **68**
8. SUMMARY **69**
9. KAYNAKLAR **70**

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAA	Ailevi Akdeniz Ateşi
A/A	Alanin / Alanin
CRP	C reaktif protein
DNA	Deoksi ribonükleik asit
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
G/A	Guanin/Alanin
G/G	Guanin/ Guanin
HİDS	Hiper immünglobilin D Sendromu
HLA	Human leukocyt antigen
IL-1ß	İnterlökin 1 beta
Kb	Kilobaz
MEFV	Mediterranean fever geni
MHC	Major histocompatibility complex
NF-KB	Nükleer faktör kappa B
PAN	Poliarteritis nodosa
PCR	Polymerase chain reaction
PFAPA	Periodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit, Adenopati Sendromu
RA	Romatoid artrit
RNA	Ribonükleik asit
RFLP	Restriction Fragment Length Polimorfizm
SAA	Serum amiloid A
SLE	Sistemik lupus eritematozus
TNF-α	Tumor necrosis factor alfa
TRAP	TNF receptor-associated periodic syndrome

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1.4.1. MEFV gen mutasyonları ……....6
Şekil 3.2.4.1. TNF-α -238 gen polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü ……...…….32
Şekil 3.2.4.2. TNF-α -308 gen polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü ……..…….32
Şekil 4.1. Çalışma gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı……...33
Şekil 4.2. Başlangıç yaşına göre AAA hastalarının değerlendirilmesi……34
Şekil 4.3. AAA'lı hastaların günlük kolşisin dozları ……34
Şekil 4.4. AAA'lı hastalarda kolşisin kullanımı öncesi ve sonrası aylık atak sayısı ……35
Şekil 4.5. AAA'lı hastaların başlangıç ve tanı konma yaşları…….……36
Şekil 4.6. AAA'lı hastaların kolşisin yanıt oranları……38
Şekil 4.7. Hastaların MEFV gen mutasyonlarına göre dağılımı…….38
Şekil 4.8. AAA'lı hastalarda klinik bulgularla ile cinsiyet arasındaki ilişki…...40
Şekil 4.9. AAA'lı hastaların hastalık şiddetinin değerlendirilmesi……41
Şekil 4.10. Çalışma gruplarındaki TNF-α -238 gen polimorfizmleri……42
Şekil 4.11. TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi…...….43
Şekil 4.12. TNF-α -238 gen polimorfizmi ile kolşisin yanıtı arasındaki ilişki…46
Şekil 4.13. MEFV gen mutasyonu ve TNF-α-238 gen polimorfizmi ilişkisi…. 47
Şekil 4.14. AAA'lı hastalarda klinik bulguların varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasındaki ilişki……47
Şekil 4.15. Çalışma gruplarındaki TNF-α-308 gen polimorfizmleri……49
Şekil 4.16. TNF-α-308 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi……..51
Şekil 4.17. TNF-α -308 gen polimorfizmi ile kolşisin yanıtı arasındaki ilişki….54
Şekil 4.18. MEFV gen mutasyonu ve TNF-α -308 gen polimorfizmi ilişkisi…..54
Şekil 4.19. AAA'lı hastalarda klinik bulguların varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasındaki ilişki…….56
Şekil 4.20. Hastalık şiddeti ile MEFV gen mutasyonu arasındaki ilişki……..57

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1.6.1. AAA'da Tel Hashomer tanı kriterleri…….….14
Tablo 2.1.6.2. AAA'da Livneh ve arkadaşlarının tanı kriterleri……..…15
Tablo 2.1.6.1.1. Pras ve arkadaşlarına göre hastalık ciddiyeti skorlaması…….….16
Tablo 2.1.8.1. AAA'nın ayırıcı tanısı…….….18
Tablo 4.1. Çalışma gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı…….....33
Tablo 4.2. Başlangıç yaşına göre AAA hastalarının değerlendirilmesi …….….34
Tablo 4.3. AAA'lı hastaların kolşisin dozları…….….34
Tablo 4.4. AAA'lı hastalarda kolşisin öncesi ve sonrası aylık atak sayısı…….….35
Tablo 4.5. Hastaların özelliklerinin cinsiyete göre dağılımı…….…...39
Tablo 4.6. AAA'lı hastaların hastalık şiddetinin değerlendirilmesi…….....40
Tablo 4.7. Çalışma gruplarındaki TNF-α -238 gen polimorfizmleri…….….42
Tablo 4.8. TNF-α-238 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi……..43
Tablo 4.9. TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalık özelliklerinin ilişkisi……...48
Tablo 4.10. Çalışma gruplarındaki TNF-α-308 gen polimorfizmleri…….….49
Tablo 4.11. TNF-α-308 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi…….....50
Tablo 4.12. TNF-α -308 gen polimorfizmi ile hastalık özelliklerinin ilişkisi…….55
Tablo 4.13. Hastalık şiddeti ile MEFV gen mutasyonları……...57

1. GİRİŞ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA); Akdeniz kökenli toplumlarda sık görülen, tekrarlayan, kendi kendini sınırlayan, ateş ile birlikte karın ağrısı, plörit, artrit, erizipel benzeri deri lezyonları ve zamanla amiloidozis gelişimi ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Tanının konulabilmesi için hastanın mutlaka atak döneminde ve ataksız dönemde değerlendirilmesi gerekir (1-3).

AAA ataklarının oluşumu birçok kompleks olaylar zincirini içermektedir. Sitokin ağının aktivasyonu, inflamasyon olayının birçok basamağında devreye girmektedir. İlk çalışmalarda atak sırasında tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α) düzeylerinin düştüğü saptanırken daha sonra yapılan çalışmalarda atak sırasında yükseldiği gösterilmiştir. Bu nedenlerden dolayı, TNF geninin yapısı ve ekspresyonundaki değişikliklerin hastalık gelişiminde rolü olabileceği düşünülmüştür (4,5).

TNF-α'nın AAA'daki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. TNF-α'nın proinflamatuar bir sitokin olup AAA ve sekonder amiloidozis gelişiminde majör bir rol aldığına inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, atak esnasında TNF-α düzeyinin azaldığı veya orta düzeyde arttığı, ataklar arasında ise normal veya artmış olduğu saptanmıştır (6-8).

TNF-α, güçlü proinflamatuar ve immün yanıtı denetleyen bir sitokin olup; başka sitokinlerin üretimini, adhezyon moleküllerinin belirginleşmesini, hücrelerin çoğalmasını ve metalloproteinazların üretimini arttırır. Ayrıca akut faz yanıtında, vasküler adhezyonda, kemik iliğinin progenitör farklılaşmasında, nötrofil aktivasyonunda, T ve B lenfositlerin proliferasyonunda rol alır (9,10).

Otoimmün ve infeksiyöz hastalıkların etyopatogenezinde, TNF-α gen bölgesindeki değişikliklerin rolünün incelendiği çok sayıda araştırma mevcuttur. TNF-α'nın AAA, sistemik lupus eritematozus, Behçet hastalığı, romatoid artrit, primer Sjögren sendromu ve ankilozan spondilit gibi hastalıkların patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir (11-13).

TNF-α geninin promoter bölgesindeki polimorfizmlerin, genelde TNF-α sentezini etkileyerek hastalıklara eğilim yarattığı düşünülmekle beraber, bu konu halen netlik kazanmamıştır. Hem Ponciot ve arkadaşlarının hem de Uglialoro ve

arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, TNF-α-238 G/A polimorfizminin mononükleer hücrelerde TNF-α transkripsiyonu ve sentezi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (14,15).

Sitokin genlerindeki fonksiyonel polimorfizmlerin hastalıkla olası ilişkisinin tesbitinin, özellikle bilinen ve uygulanan tedavilere dirençli vakaların tedavisinde yeni ufuklar açabileceği düşünülmektedir. Çeşitli otoimmün hastalıkların ve amiloidozis gelişmiş olan AAA'lı hastalarda olgu sunumları şeklinde bildirilen vakaların tedavisinde anti-TNF ajanların uygulanması, TNF-α polimorfizmlerinin AAA hastalarında hastalığın gelişiminde, hastalığın şiddetinde ve amiloidozis gelişmesi üzerinde risk yaratıp yaratmadığı konusu artan bir önem kazanmıştır. Bu nedenle AAA'da TNF-α polimorfizmlerinin rolünü anlamak, AAA'da sitokinleri hedefleyen tedavilerin planlanmasında ve hastalığın patogenezinin açıklanmasında yardımcı olabilir.

1.1. Amaç

Bizim bu çalışmada ki amacımız; TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizmlerini araştırarak:

1-Türkiye'de AAA gelişimindeki genetik yatkınlıkta, TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin etkisinin olup olmadığını,

2-TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin, hastalığın şiddeti ile ilişkisi olup olmadığını ve bu hastalarda amiloidozis gelişmesinde TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin etkisinin olup olmadığını,

3-Hastalığın gelişmesini kontrol edebilme ve uygulanan tedavilere dirençli olgularda TNF-α gen bölgesinin hedef oluşturup oluşturamayacağını ortaya çıkarmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi

2.1.1. Tanım

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA); Akdeniz kökenli toplumlarda sık görülen, tekrarlayan ve kendi kendini sınırlayan ateş ile birlikte karın ağrısı, plörit, artrit, erizipel benzeri deri lezyonları ve zamanla amiloidozis gelişimi ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (1-3).

2.1.2. Tarihçe

AAA Türkler, Yahudiler, Araplar ve Ermeniler'de sık olarak görülür (1-3). İlk AAA olguları bu etnik gruplarda tanımlanmıştır. Dünya literatüründe ilk kez 1908 yılında Janeway ve Mosenthal, tekrarlayan ateş, abdominal ağrı ve lökositozu olan 16 yaşında Yahudi bir kız hasta yayınlamışlardır (16). İlk olgudan sonra 1945 yılında Amerikalı araştırmacı Siegal, ‘’Benign Paroksismal Peritonitis’’ adı ile tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları ile seyreden bir klinik antite tanımlamıştır (17). Heller ve Sohar 1958 yılında ilk kez Ailevi Akdeniz Ateşi tanımını kulllanmışlar ve 1961 yılında aynı yazarlar hastalığın otozomal resesif kalıtıldığını göstermişlerdir (18). Türkiye'de ise ilk Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı ‘’Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu’’ adı ile 1946 yılında Abrevaya Marmaralı tarafından bir erişkinde tanımlanmıştır (16).

2.1.3. Prevalans ve Demografik Özellikler

Hastalık özellikle Doğu Akdeniz havzasında yaşayan halklarda artmış sıklıkta görülmektedir. Ailesel Akdeniz ateşi en sık Sefardik Yahudiler’de, Ermeniler’de, Araplar’da ve Türkler’de ortaya çıkar. Son zamanlarda hastalık daha iyi

tanımlandıkça italyanlar'da, Yunanlılar'da ve İspanyollar'da da AAA'lı olgular bildirilmeye başlanmıştır (1,2,3).

Ülkemizde hastalık Akdeniz kıyılarında yaşayanlardan çok, kökleri Ankara, Tokat, Sivas, Kayseri gibi İç Anadolu'ya, Kastamonu, Sinop gibi Batı Karadeniz'e, Gümüşhane, Giresun, Bayburt gibi Doğu Karadeniz'e, Erzincan, Erzurum, Malatya, Kars ve Ağrı gibi Doğu Anadolu'ya dayanan bireylerde daha sık olarak görülmektedir (19).

Türkler'de AAA'nın prevalansını gösteren sınırlı sayıda çalışma vardır. Özdemir ve Sökmen 1958-1968 yıllan arasında yürüttükleri çalışmada 57 AAA tanısı koymuşlar ve hastalık prevalansını %0.3 bulmuşlardır (16). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Türkler'deki ortalama hastalık prevalansının 1/1000, taşıyıcılık oranının ise 1/5 oranında olduğu saptanmıştır (1,19). Hastalığın görülme oranı kadın ve erkek cinsiyette benzer oranlarda olmakla birlikte bazı çalışmalarda erkeklerde daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (20).

2.1.4. Patogenez

AAA'nın patogenezi ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur. 1976 yılında AAA'nın katekolamin metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklanabileceği hipotezi ortaya atılmıştır. Hayashi ve arkadaşları, tekrarlayan peritonit atakları olan bir hastanın ataklarının reserpin ile baskılandığını ve noradrenalin infüzyonu ile uyarıldığını göstermiş ve hastalığın patogenezinde katekolamin metabolizmasına dikkat çekmiştir (21). Barakat ve arkadaşları 1984 yılında, AAA tanılı 21 hastada metaraminol infüzyonundan 48 saat sonra atak geliştiğini, 21 kontrol hastasında ise atağın olmadığını göstermiştir. Hastaların bir bölümünde, düşük doz reserpin kullanarak atakları baskılayabilmiş ve bu görüşü desteklemişlerdir (22).

1984 yılında Matzner ve arkadaşları AAA'lı hastaların periton ve sinoviyal sıvılarında, kompleman aktivasyonu sırasında oluşan ve önemli bir inflamatuvar aracı olan C5a inhibitörünün eksikliğini göstermişlerdir. Komplemanın C5a parçası kemotaktik aktiviteye sahip, inflamasyon öncüsü olan bir peptitdir. C5a inhibitörünün eksik olması nedeni ile inflamatuvar yanıtın yetersiz baskılandığı ve nötrofil kemotaksisinin inhibe edilemediği düşünülmüştür (23).

Shohat ve arkadaşları 1989 yılında lipokortin eksikliği temeline dayanan olası patogenetik bir mekanizma bildirmişlerdir. Shohat'ın patogenetik mekanizmasına göre, AAA'lı hastalarda lipokortin eksikliğine bağlı olarak fosfolipaz A2 baskılanamamakta, dolayısıyla araşidonik asit ve diğer inflamatuvar mediatörlerin salınımı artmakta, ve inflamasyon tetiklenmektedir. Bu mekanizmayla AAA'nın neden steroide yanıt vermediği de açıklanabilmektedir (24).

AAA'nın tam aydınlatılamayan patogenezinde sitokin yapımının da rol aldığını düşündüren veriler vardır. Tümör nekroz faktör alfa (TNF-α); infeksiyon, doku hasarlanması ve inflamasyonun ilk aracısıdır. Nötrofilleri aktive eder ve onların yapışma, birikme aktivitelerini etkiler. Endotel hücrelerine lökositlerin yapışmasını ve geçirgenliği artırır (25). TNF-α, birçok akut faz proteini için güçlü uyarıcı etkiye sahiptir. Bu nedenle AAA'daki inflamasyonda ve ortaya çıkan klinik bulgularda TNF-α'nın etkisi çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır.

Schattner ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, AAA hastalarında atak döneminde TNF-α düzeyini yüksek bulmuştur. Serum TNF düzeyindeki yükselme lökosit sayısı, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı ve fibrinojen gibi diğer akut faz reaktanları ile pozitif korelasyon göstermiştir. Bu çalışmada AAA hastalarının atak dönemlerinde serumda yüksek bulunan TNF düzeylerinin klinik ve laboratuvar bulgularının birçoğundan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (26).

Hastalığın patogenezini açıklamada tüm bu hipotezler tek başına yetersiz kalmış ve patogenezle ilgili çalışmalar sürerken, 1992 yılında hastalıktan sorumlu genin 16. kromozomun kısa kolunda olduğu gösterilmiş ve daha sonraları bu gen klonlanmış ve 1997 yılında MEFV (Mediterranean FeVer) geni olarak adlandırılmıştır. Bu gen 16.kromozomun kısa kolunda (16p) 13.3 bölgesinde 10 ekzonluk, 15 kilobazlık bir gendir ve 3505 nükleotitten oluşmaktadır (1-3).

MEFV geninin ürünü olan pyrin/marenostrin olarak adlandırılan protein, özellikle nötrofillerde bulunan ve nötrofil aktivasyonunu baskılayan düzenleyici bir proteindir. MEFV genindeki mutasyon sonucunda gelişen pyrin disfonksiyonunun AAA etyopatogenezinde önemli olduğu savunulmaktadır. Pyrin/marenostrin proteinin lökositler üzerinde otoregülatuar bir rol oynadığı düşünülmektedir. Pyrin özellikle lökositler, monositler ve bir miktar da fibroblastlarda belirir. Normalde bu protein ile interlökin 1 ß (IL-1ß) gibi inflamasyonda önemli rol oynayan bazı

sitokinler ve nükleer faktör kappa B (NF-KB) gibi apopitozdan sorumlu sinyal molekülleri arasında ilişki olduğu düşünülmektedir. AAA'da olduğu gibi MEFV geninde bir mutasyon varsa hem inflamasyonun en önemli aracılarından IL-1ß'nın yapımı uyarılır, hem de apopitoz baskılanır ve dolayısı ile ufak uyarılar sonucu artmış inflamasyon yanıtı (ataklar) ortaya çıkar (27).

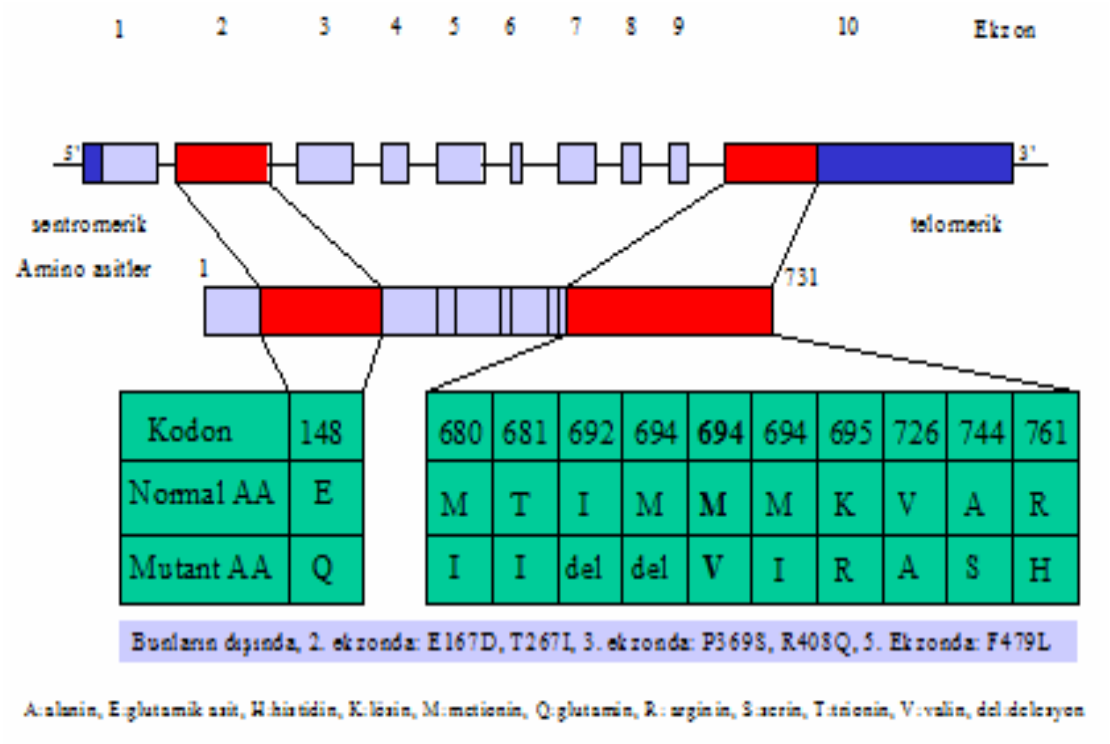
AAA'da hastalar arasında farklı klinik özelliklerin olması ve hastalığın değişik şiddette seyretmesi, AAA geninin klonlanması ve birçok mutasyonun saptanması ile fenotip-genotip korelasyonu kurulmasına yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur. Bugüne dek MEFV geninde 75'den fazla mutasyon tanımlanmış ve M694V, M680I, V726A, E148Q en sık görülen mutasyonlar olarak belirlenmiştir (19).

-M694V;metionin yerine valin,

-V726A;valin yerine alanin,

-M680I;metionin yerine izolösin,

-M694I;metionin yerine izolösin geçmiştir (şekil 2.1.4.1)



Şekil 2.1.4.1. MEFV gen mutasyonları

(www.romatizmam.com/ppt/03_Ailesel%20Akdeniz%20Atesi.ppt)

Ülkemizden yayınlanan bir çok çalışmada Türklerde en sık M694V mutasyonunun görüldüğü bildirilmektedir. Akar ve arkadaşları AAA tanısı ile izledikleri 230 hastada 7 farklı mutasyonla ilgili araştırmalarında (M694V, M680I, V726A, M694I, E148Q, R761H, K695R) mutasyonları sıklık sırasına göre M694V (%44), M680I (%12), V726A (%11), M694I (%3) olarak bildirmişlerdir. E148Q, R761H, K695R mutasyonları ise az sayıda hastada saptamışlardır (28).

Kınıklı ve arkadaşlarının yaptığı AAA'da MEFV gen mutasyonları ve HLA-DR, HLA-DQ allelleri arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmada 40 AAA'lı hastanın 10'unda (%25) M694V homozigot, 1'inde (%2,5) M680I homozigot, 14'ünde (%35) bileşik heterozigot, 11'inde (%27,5) M694V heterozigot, 1'inde (%2,5) V726A heterozigot mutasyon saptarken 3 hastada (%7,5) ise MEFV gen mutasyonu saptanmamıştı (29).

Çeşitli etnik gruplardaki AAA hastalarında yapılan ilk çalışmalarda M694V homozigot mutasyonunun olmasının yüksek amiloidozis riski taşıdığı belirtilmiştir. M694V homozigot mutasyonun bulunması, Ermenilerde ve Yahudilerde hastalığın şiddetli gidişi ile ilişkili olduğu bildirilmesine karşılık Türkler'de benzer ilişki gösterilememiştir (30,31). Buna karşın Yalçınkaya ve arkadaşlarının Türklerde yaptığı bir çalışmada M694V dışında tüm mutasyonlarda amiloidozis geliştiği bildirilmiştir (2).

Sonuç olarak, amiloidozis bazı mutasyonları taşıyan AAA hastalarında daha sık görülmektedir ancak amiloidozisin tüm mutasyonlarda görülme ihtimali vardır. Günümüzde ağırlıklı olarak amiloidozis gelişiminin genetik olarak belirlendiği düşünülmektedir. Şu an için bilmediğimiz çevresel faktörler ve/veya genetik değişikliklerin saptanması amiloidozis gelişimi ve hastalığın fenotipik varyasyonlarını açıklamak için gerekli görünmektedir.

Bugünkü durum moleküler tanı açısından fazla tatminkar değildir. Çünkü klinik olarak kesin AAA olan hastaların MEFV geni mutasyonları bakımından sadece %70'i homozigot veya bileşik heterozigottur. Geri kalanı heterozigottur veya teşhis edilebilir bir mutasyon yoktur. Öte yandan bazı etkilenmemiş bireylerde mutasyon vardır. Öyleyse MEFV geninde mutasyon saptanması klinik bulguları AAA ile uyumlu olan hastada klinik tanıya yardım eden bir araçtır.

2.1.5. Klinik

AAA, esas olarak çocukluk çağı hastalığıdır ve hastaların %90'ında şikayetler 20 yaşından önce başlar (1,30). Fakat tanı yaşı, klinik bulguların hafif olması veya hekimin tanıyı aklına getirmemesine bağlı olarak gecikebilir. Hastalığın karakteristik özelliği ateş ile birlikte vücudun bir veya birkaç bölgesinde inflamasyona bağlı ağrılı atakların oluşmasıdır. Bu bölgeler karın, göğüs, eklemler, deri, skrotum ve kaslardır. Hastalığın semptomatik olduğu dönem, atak olarak adlandırılır. Hastalar atak aralarında kendilerini tamamen iyi hissederler ve bu özellik tanı için önemlidir (4,30,32). AAA'nın üç farklı fenotipi vardır. Fenotip 1; sıklıkla çocukluk veya ergenlik çağında başlayan peritonit, sinovit veya plöritin kısa süreli febril epizodları ile karakterizedir. Fenotip 2 ise kendini başlıca nefropati ile gösteren AA amiloidozis tablosu olarak tanımlanabilir (1,27,30). Aşağıdaki 3 kriterden birinin olması hastaya fenotip 2 demek için yeterlidir.

1. Ailesinde AAA hastalığı hikayesi olan bir kimsede, AAA veya sekonder amiloidozis oluşturabilecek bir hastalık olmamasına rağmen biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidozis olması,
2. Biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidozis saptandıktan sonra klasik AAA ataklarının ortaya çıkması,
3. Biyopsi ile ispatlanmış AA tipi amiloidozise ek olarak hastada MEFV gen mutasyonu saptanmasıdır.

Fenotip 3 ise; hastada AAA kliniği olmamasına rağmen MEFV gen mutasyonunun bulunmasıdır.

AAA'nın klasik klinik tablosu öylesine özeldir ki, çoğu vakalarda tanı için laboratuar ve genetik desteğe ihtiyaç yoktur (32,33). Hastalık başlıca, karın, göğüs, eklemleri tutan ağrılı ve ateşli nöbetlerle karakterizedir. Akut epizotlar arasında hastalar genellikle asemptomatiktir ve rutin laboratuar testleri esas itibariyle normaldir (1,27). Etkilenen bölgeye bakılmaksızın atakların genel özellikleri çok benzerdir; semptomların hızla oluşması, kısa süresi (6 saat-4 gün), yüksek ateş (>38^0C), dayanılmaz ağrı, spontan remisyon ve tam düzelme olması karakteristiktir Ataklar düzensiz aralıklarla ortaya çıkar (1,27,33).

Vakaların çoğunda atak sıklığı, 2 haftada 2 epizotla, 2 ayda bir epizot arasında değişir. Akut atağın süresi hastaların çoğunda 2-3 gündür. Bu süre aynı hastada ataktan atağa değişebilir. Genel olarak atakları başlatan spesifik bir sebep bulunamazken, bazı hastalarda menstruasyon, emosyonel stres, yoğun fiziksel aktivite tetikleyici faktörlerdir (32).

2.1.5.1. Ateş

Hastalığın en tipik bulgularından biridir. Hemen bütün hastalarda nöbetlerinin bir döneminde ateş vardır. Ancak ateşsiz nöbet tanımlayan az sayıda hasta da vardır. Ateşin şiddeti, hafiften 40^0 C' ye kadar değişebilir. Birkaç saatten 4 güne kadar yüksek kalabilir, fakat genellikle 24 saatte düşer. Kolşisin alan hastalarda, nöbetler esnasında ateş olmayabilir (3). Ateş, AAA için karakteristik fakat spesifik değildir. Periyodik ateş sendromları adıyla anılan hastalıklarda ve başka bazı hastalık durumlarında da görülebilir (5,34).

2.1.5.2. Abdominal Ataklar

Karın ağrısı, AAA'da en sık rastlanan (%90) nöbet tipidir (1,3,27). Genellikle aniden ortaya çıkan, bir kadranda başlayıp bütün batına yayılan ağrı şeklindedir. Ağrının şiddeti, hafif bir sancıdan akut karın tablosuna kadar değişen düzeylerde olabilir. Karın ağrısı ateşten önce görülür ve ateş normale döndükten sonra 1-2 gün süreyle devam eder. Lokalize olabilir ve apandisit veya kolesistiti taklit edebilir (3). Fizik muayene bulguları peritonite benzer. Akut atak esnasında çekilen ayakta batın grafilerinde, ileusa benzer şekilde ince bağırsaklarda distansiyon ve sıvı seviyeleri görülebilir.

Abdominal ataklar, inkomplet abdominal ataklar şeklinde de ortaya çıkabilir. Bu atakların özellikleri arasında normal ateş, akut faz reaktanlarında değişiklik olmaması veya minimal derecede olması, nöbetin daha kısa veya daha uzun sürmesi, Spesifik yerlerden başka yerleri tutan artrit olması tam bir peritonitin olmaması ve nöbetlerin bir abdominal bölgeye lokalizasyonu sayılabilir (35).

2.1.5.3. Artrit Atakları

Artrit atakları, AAA'nın önemli bir özelliğidir ve % 40-70 oranında görülür. Klasik olarak, gezici olmayan, eklemde tahribat yapmayan, eklemleri asimetrik olarak tutan mono veya oligoartiküler artrit tarzında ortaya çıkar. Akut eklem romatizması ve juvenil romatoid artritdekine benzer gezici poliartrit vakaları da bildirilmiştir Kural olarak büyük eklemler tutulur. En sık tutulan eklemler, alt ekstremite eklemleridir. Fakat hemen hemen her eklem tutulabilir (3,36).

AAA'nın eklem atakları akut veya kronik form olmak üzere iki şekilde gelişebilir. Akut form %95 oranında görülür, başlangıç anidir, ateş 38-40^0 C arasında değişir. Tutulan eklem, şiş, hareketleri kısıtlı ve şiddetli ağrılıdır. Kızarıklık ve lokal ısı artışı böylesine akut bir tablodan beklenenden daha azdır. Belirti ve bulgular 1-2 günde pik seviyesine ulaşır ve sekel bırakmadan yavaş yavaş düzelir (32).

Hastaların yaklaşık % 5'inde, bir aydan daha fazla süren uzamış eklem atakları görülür. Genellikle kalça ve diz eklemleri tutulur. Uzamış vakaların bazılarında eklem hasarı oluşur ve kalıcı deformiteye sebep olabilir (6).

Spondiloartropati AAA'nın iyi bilinen bir kas-iskelet tutulumu olup genellikle kolşisin tedavisi tek başına yeterli olmamakta ve spesifik tedaviler gerektirmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda AAA'ya bağlı spondiloartopatilerin tedavisinde TNF-α blokajının etkili olduğu saptanmıştır (6).

2.1.5.4. Plörit Atakları

AAA'da plöreziye bağlı oluşan göğüs ağrısı sıklığı %25-80 olarak bildirilmektedir. Göğüs atakları, genellikle tek taraflı, solunumu güçleştiren, hastanın yüzeyel solumasına neden olan göğüs ağrısı şeklindedir. Bazen frotman veya perküsyonla matite alınabilir. En sık görülen radyografik bulgu kostofrenik açıda küntleşmedir. Nadiren büyük effüzyon ve hatta atelektazi görülebilir (3,33).

Plörit atağı geçiren bir hastada tanısal zorluklardan biri perikardiyal bir atak olup olmadığını teşhis etmektir. Perikardiyal etkilenme nadiren görülür ve genellikle spesifik bir belirti yoktur veya çok azdır. Çok nadiren perikardiyal tamponad veya konstriktif perikardit görülebilir. Perikardit, AAA'lı hastaların %0.5'inde bildirilmiştir (3,19,32).

2.1.5.5. Cilt Bulguları

Erizipel benzeri eritem, AAA için tipik olan yegane döküntüdür ve sıklığı %3-46'dır (3,16). Lezyon genellikle tek taraflı, bacağın ön yüzünde, ayak bileğinde veya ayak sırtında pembe-mor renkli, ciltten hafif kabarık, keskin sınırlı, sıcak ve hassas bir cilt bölgesi olarak ortaya çıkar. Lezyonun bulunduğu cilt bölgesi gergin ve ödemli olabilir, üzerinde ısı artışı görülmeyebilir. Genellikle geniş bir sahayı etkileyen eritem 2-3 gün içinde kendiliğinden geçer (3,33). AAA'da bildirilen akut epizodik cilt lezyonlarından biride eritema nodozum benzeri erupsiyon olarak adlandırılan nodüler lezyonlar olup bu lezyonlar genellikle 1 cm den küçük, kızarık ve kısmen hassastır (33).

2.1.5.6. Skrotal Ataklar

Akut skrotum, 20 yaşından sonra nadiren görülür. Çocuklarda ve genç erişkinlerde daha sıktır. Ataklar genellikle tek taraflıdır ve şişlik, kızarıklık, hassasiyet ile kendini belli eder. Tunica vaginalisin enflamasyonundan ileri gelir. Anatomik bir sekel bırakmadan 12-24 saat sonra kendiliğinden geçer. Akut skrotum tek başına veya abdominal atakla birlikte olabilir (37).

2.1.5.7. Vaskülit

AAA'nın seyri sırasında belirgin olarak artmış sıklıkta vaskülitlere rastlanır. AAA'da en sık görülen vaskülit Henoch-Schönlein purpurasıdır (HSP). Buradaki ilginç olan noktalardan birisi HSP geçiren hastalar iyi sorgulandıklarında birçoğunda AAA olduğu ortaya çıkmaktadır. Normal popülasyona göre AAA'da artmış sıklıkta görülen diğer bir vaskülit tablosu ise poliarteritis nodosadır (PAN). Çocukluk ve gençlik çağlarında ortaya çıkan PAN'da AAA mutlaka sorgulanmalıdır (38). Yüksek eritrosit sedimantasyon hızı ve kortikosteroidlere belirgin yanıt ile karakterizedir. AAA bulunan, PAN'lı hastalarda perirenal hematom sık görülmektedir.

2.1.5.8. Renal Tutulum

AAA'lı hastalarda görülen renal tutulumun en iyi bilinen şekli amiloidozisdir. AAA hastaların hayatlarını tehdit eden en önemli komplikasyon renal amiloidozistir. Amiloid tipi AA tipinde sekonder amiloidozistir. Hastalığın ilk tanımlandığı yıllarda yapılan otopsi çalışmalarında ölümlerin %99'unun nedeni olduğu bildirilmiştir. İnsidans Yahudiler'de %37.2, Ermeniler'de %8, Araplar'da %2 olarak yayınlanmıştır (16,39,40,41). Kolşisin tedavisinin tanımlanmadığı dönemlerde Özdemir ve Sökmen, erişkin hasta serilerinde amiloidozis insidansını %60 olarak bildirmişlerdir (42). Daha sonra Yalçınkaya ve arkadaşlarının hasta grubunda amiloidozis insidansı %29, Yazıcı ve arkadaşlarının gruplarında ise %7 olarak belirtilmiştir (43,44).

AAA'lı çocuklarda gelişen amiloidozisin prognostik faktörleri Saatçi ve arkadaşları tarafından geniş hasta serilerinde belirlenmiştir. Erkek cinsiyet olma, ailede amiloidozis öyküsü bulunması, anne-baba akrabalığı, artrit ve persistan mikroalbuminürinin bulunması amiloidozis için kolaylaştırıcı ve önceden tahmin etmede fikir verici faktörler olarak tanımlanmıştır (45). Amiloidozis tanısı etkilenen organın biopsisinde amiloid birikiminin gösterilmesi ile konur. En sık renal, rektal ve gingival biopsi kullanılmaktadır.

2.1.5.9. Diğer Semptom ve Bulgular

Tekrarlayan baldır ağrıları ve şişleri en sık görülen şikayetlerdendir. Krizlerle birlikte şiddetli ve yaygın miyalji görülebilir. Bazen bu kas ağrıları 6 haftaya kadar uzayabilir ve yüksek ateş, yüksek eritrosit sedimentasyon hızı, normal kreatin fosfokinaz düzeyleri, normal elektromyografik incelemeler ve normal kas biyopsisi ile karakterize uzamış febril miyalji tablosunu oluşturur. Mollaret menenjiti tarzında tekrarlayan aseptik menenjit, krizlere eşlik eden ağır başağrıları, EEG değişiklikleri, gözde kolloid cisimler, splenomegali, daha seyrek olarak hepatomegali ve lenfadeonomegali bulunabilir. Hasta çocuklarda gelişmenin yavaşlaması, zayıflama, nörotik durum ve çeşitli psikolojik bozukluklar görülebilir.

2.1.6. AAA' da Klinik Tanı ve Tanısal Kriterler

AAA tanısı klinik bulgular ve hasta izlemiyle konur. Tanının konulabilmesi için hastanın mutlaka atak döneminde ve ataksız dönemde değerlendirilmesi gerekir. Tipik ataklarda hastanın ateşi vardır ve ateşe karın ağrısı, göğüs ağrısı ya da artrit eşlik eder. Erizipel benzeri eritem, AAA için spesifik deri bulgusudur ve tipik atakta tek klinik bulgu olarak görülebilir. Tipik AAA atağı kısa sürer (24-72 saat) ve atağın bitmesi ile hasta tamamen normale döner.

Bazı vakalarda tipik atak tablosu görülmez. Atipik olgularda semptomlar daha hafif seyir gösterir ve bu nedenle tanı koymakta güçlük çekilir. Buna rağmen şikayetlerin çocukluk çağında başlaması, benzer şikayetlerin belli aralıklarla tekrarlaması, atak aralarında hastanın semptomlarının ve laboratuvar bulgularının normale dönmesi klinik izlemde dikkati çeken bulgulardır.

Ayrıca ailede benzer şikayetleri olan birey öyküsü, anne/baba arasında akraba evliliğinin olması, akut apandisit öntanısı ya da bu öntanı ile yapılan laparoskopik girişim şeklindeki öyküler tanı için destekleyici bulgulardır. Hastanın etnik kökeni de tanı aşamasında mutlaka gözönünde bulundurulmalıdır. Bu konuda uzun yıllar

çalışmış araştırmacılar hekime kolaylık olması amacı ile sistematik AAA tanı kriterleri belirlemişlerdir.

Son çalışmalardan sonra tüm dikkatler genotip çalışmalarına yönelmiştir. Daha önce sözü edilen 4 mutasyon (M694V, M680I, V726A, E148Q) hastaların %80-85'inde bulunmaktadır. Şüphelenilen bir hastada bu mutasyonların bileşik heterozigot ya da homozigot olarak bulunması tanı lehine kabul edilmektedir. Ancak klinik olarak AAA olan hastaların %15–20 kadarında tek mutasyon bulunmakta, %5–10 kadarında ise bilinen mutasyonlardan hiçbirine rastlanmamaktadır. Ayrıca sağlıklı popülasyonda taşıyıcılık oranı çok yüksek olduğu için (%20) bu sonuçlar yanıltıcı olabilmektedir. Dolayısı ile AAA günümüzde hala klinik verilere dayanan bir tanıdır (46).

Günümüzde en sık kullanılan tanı kriterleri Tel Hashomer tanı kriterleri ve 1997'de Avi Livneh ve arkadaşları tarafından tanımlanan tanı kriterleridir (35,47) (tablo 2.1.6.1 ve tablo 2.1.6.2).

Tablo 2.1.6.1. AAA'da Tel Hashomer tanı kriterleri (47)

Major kriterler	Minör kriterler
1) Serözitin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları	1) Tekrarlayan ateş atakları
2) Yatkınlaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidozis varlığı	2) Erizipel benzeri eritem varlığı
3) Kolşisin tedavisine anlamlı yanıt alınması	3) 1.derece akrabalarında AAA öyküsü
Kesin tanı: 2 majör veya 1 majör + 2 minör kriter	Olası tanı: 1 majör + 1 minör kriter

Tablo 2.1.6.2. AAA'da Livneh ve arkadaşlarının tanı kriterleri (35)

Majör kriterler	Minör kriterler
1-4'deki tipik ataklar 1.Peritonit 2.Plörit veya perikardit 3.Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği) 4.Tek başına ateş **Tipik ataklar:** -Tekrarlayıcı olması (aynı yerde 3'den çok) -Ateşin olması (38 ^{0}C veya daha yüksek) -Kısa süreli olması (12 saat-3 gün) **Destekleyici Kriterler:** 1- Ailesinde AAA hikayesi bulunması, 2- Etnik kökenin uyumlu olması, 3- Atakların 20 yaşından önce başlaması, 4- Atakların yatak istirahatı gerektirmesi, 5- Atakların kendiliğinden geçmesi, 6-Ataklar arasının semptomsuz olması, 7-Geçici inflamatuar yanıt, 8-Epizodik proteinüri/hematüri, 9-Gereksiz laparotomi hikayesi ve 10-Anne babanın akraba olmasıdır.	1.Peritonun tipik olmayan atağı 2.Göğüsün tipik olmayan atağı 3.Eklemin tipik olmayan atağı 4.Egzersize bağlı bacak ağrısı 5.Kolşisine iyi cevap **Tipik olmayan ataklar:** -Vücut sıcaklığının normal veya <38 ^{0}C olması, -Tipik ataktan daha kısa veya uzun süreli olması (fakat 6 saatten kısa veya 1 haftadan uzun olmaması), -Abdominal atakta peritonit bulgusunun olmaması, -Lokalize abdominal atakların olması ve -Spesifik yerlerden başka yerleri tutan artrit olmasıdır
Tanı için **:**1 majör veya 2 minör veya 1 minör + 5 destekleyici kriter gereklidir.	

2.1.6.1. AAA'da Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi

Günümüzde AAA'da hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan skorlama Pras ve arkadaşlarının tanımladığı sisteme dayandırılan skorlama sistemidir (46,48). Bu skorlama sisteminde hastalığın başlangıç yaşı, aylık atak

sayısı, artritin akut ya da uzamış olması, erizipel benzeri eritemin olup olmaması, amiloidozis gelişip gelişmediği ve kullandığı kolşisin dozuna göre hastalara belirli puanlar verilmekte ve bu puanlamaya göre hastalık hafif, orta ve ciddi olarak sınıflandırılmaktadır (tablo 2.1.6.1.1).

Tablo 2.1.6.1.1. Pras ve arkadaşlarına göre hastalık şiddeti skorlaması (46,48)

Parametre	Özellik	Puan
Başlangıç yaşı (yıl)	>31	0
	21–31	1
	11–20	2
	6–10	3
	<6	4
Aylık atak sayısı	<1	1
	1–2	2
	>2	3
Artritin özelliği	Akut	2
	Uzamış	3
Erizipel benzeri eritem varlığı		2
Amiloidozis varlığı		3
Kolşisin dozu (mg/gün)	1	1
	1.5	2
	2	3
	>2	4
3-5 puan: hafif 6-8 puan: orta 9 ve üzeri puan: ciddi		

2.1.7. AAA'da Laboratuvar

AAA tanısı için spesifik bir laboratuvar testi yoktur. Akut inflamasyonla giden olaylarda arttığı bilinen akut faz proteinleri (CRP, fibrinojen, seruloplazmin, haptoglobülin, serum amiloid A proteini, eritrosit sedimentasyon hızı, beyaz küre sayısı) atak sırasında yükselir ve atak sonrasında normale döner (16).

Son dönemde yapılan çalışmalar AAA hastalarında akut faz reaktanlarının sadece atak sırasında değil, ataksız dönemde ve asemptomatik AAA taşıyıcılarında da yükseldiği gösterilmiştir (49). Bu sonuç AAA hastalarında subklinik bir inflamasyonun sürdüğü yorumunu gündeme getirmiştir.

2.1.8. Ayırıcı Tanı

AAA'nın ayırıcı periyodik ateş sendromları ve AAA'ya benzer semptomları olan diğer hastalıkları kapsamaktadır (tablo 2.1.8.1).

Bu gün için AAA'ya benzeyen ateşli epizotlarla seyreden, kalıtsal, tekrarlayan ateşli hastalıklardan bazıları şunlardır:

1. Hiper Ig D Sendromu (HIDS): Ateş ve karın ağrısı, artrit ve cilt döküntüsü ile kendini gösterir. Bu hastalığın tanısı; klinik tablo, yüksek serum Ig D seviyesine ve idrarda artmış mevalonik asit seviyelerine dayanır. Ancak, şurası belirtilmelidir ki AAA hastalarının % 10'u ve bazı sağlıklı bireyler yüksek serum Ig D seviyelerine sahiptir. Dolayısıyla atipik vakalarda tek başına yüksek Ig D seviyeleri HIDS tanısı için yeterli değildir. Peritonit olmaması, servikal lenf nodlarının tutulması, simetrik oligoartrit ve yaygın makülopapüler döküntü başlıca ayırıcı özellikleridir (50).

2. TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): Etnik köken ve atakların özellikleri AAA' dan ayırımını sağlar. İrlanda ve İskoçya kökenlilerde daha sık görülür. Kaslar, cilt ve karın bölgesi etkilenir. Tutulan kasta şiddetli ağrı ve sertliğin eşlik ettiği, genellikle bir haftadan uzun süren ataklar, gezici erizipel benzeri eritem, konjonktivit ve periorbital eritem TRAPS'ı AAA'dan ayıran başlıca özelliklerdir Tümör nekrozis faktör reseptörü ile ilişkili periyodik ateş sendromları 12. kromozomun kısa kolunda bulunan ve tümör nekrozis faktör reseptör

süperfamilyasını kodlayan gendeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Hastaların yaklaşık %15'inde amiloidozis gelişmektedir (34,51).

3. Periodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit, Adenopati Sendromu (PFAPA): Muayenede kızarık farenks, büyümüş tonsiller ve ağızda ülserler görülür. Ateşli nöbetler 24-48 saat devam eder ve kendiliğinden geçer. 20-40 mg prednizolon verilmesi, 2-4 saat içinde remisyona yol açar ve tanı testi olarak kullanılabilir. Bu hastalığın ayırımı, karakteristik bulguların hastanın boğazında tekrarlayıcı tarzda görülmesi, kolşisine cevapsızlık ve prednizolona dramatik cevap vermesine dayanır (52).

Tablo 2.1.8.1. AAA'nın ayırıcı tanısı (53)

<u>Kalıtsal tekrarlayan ateşli ataklar</u>	<u>Artrit atakları</u>
-HIDS (Hiper Ig D Sendromu)	-Behçet hastalığı
-TRAPS (TNF receptor-associated periodic syndrome)	-Reiter sendromu
-PFAPA (Periodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit, Adenopati Sendromu)	-Diğer spondiloartropatiler
	-Sarkoidoz, akut romatizmal ateş
	-Palindromik romatizma
	-Jüvenil idiyopatik artrit
	-Gut, septik artrit
<u>Abdominal ataklar</u>	<u>Göğüs atakları</u>
-Renal kolik, kolelitiazis	-Plöroperikardit
-Rekürren piyelonefrit	-SLE, pnömoni
-Rekürren kolesistit	-Pulmoner emboli
-Pelvik inflamatuvar hastalık	-Rekürren benign perikardit
-Rekürren pankreatit, peptik ülser	
-Ovulasyon, menstruasyon ağrısı	<u>Skrotal ataklar</u>
-Rekürren hemolitik ataklar	-Testis torsiyonu
-Orak hücreli anemi, abdominal epilepsi	-Epididimit
-Sifilitik nöropati, Behçet hastalığı	-Orşit
-Crohn hastalığı, ülseratif kolit	-Behçet hastalığı

2.1.9. Tedavi

İlk kez 1972 yılında Emir Özkan ve arkadaşları 14 AAA'lı hastada düzenli kolşisin kullanımının atakları azalttığını saptamış ve İstanbul Üniversitesi Tıp Bülteni'nde yayınlamıştır (54). Ancak bu çalışma ne yazık ki uluslararası bir dergide yayınlanmadığı için dünya literatürüne geçememiştir. İlginç olarak aynı yıl Stephen Goldfinger uzun süreli kolşisin kullanımı ile AAA'lı hastalarda atakların engellendiğini göstermiştir ve bu nedenle kolşisin tedavisi denince "Goldfinger" adı hatırlanmaktadır (55).

1972 yılından beri AAA'da atakların seyrelmesini sağlayan ve daha da önemlisi hastalarda amiloidozis gelişimini önleyen kolşisin tedavisi uygulanmaktadır (30). Kolşisine cevap, AAA tanısını destekleyen bir test olabilir (51). Hastaların yaklaşık %5'inin kolşisine yanıt vermemesi, ya da kısmen yanıt vermesi nedeniyle kolşisine cevapsızlık AAA tanısını ekarte ettirmez.

Amiloidozis gelişimini engelleyen en düşük etkin kolşisin dozunun 1 mg/gün olduğu bildirilmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda kolşisin 2mg/gün kullanılsa bile amiloidozis gelişebildiği gösterilmiştir (1). Düzenli kolşisin kullanımının AAA hastalarının büyük çoğunluğunda atakları seyreltmesi yanında atak şiddetini ve süresini azalttığı ve hemen tüm hastalarda amiloidozis gelişimini önlediği gösterilmiştir (1). Kolşisin kullanan hastaların %65'inde komplet remisyon ve %30'unda parsiyel remisyon elde edilirken hastaların %5'inde kolşisine yanıt alınamamıştır (27).

Kolşisin etkisini polimorfonükleer lökositlerden sitokin üretimini ve inflamatuar alana göçten sorumlu adhezyon moleküllerinin belirginleşmesini düzenleyerek ve de lökosit kemotaksisini, hücre dışı alana kollajen transportunu ve hücre içi fibriller yapıların oluşumunu inhibe ederek göstermektedir. Ayrıca amiloid fibrillerinin birikimini ve organizasyonunu da direkt olarak etkilemektedir (16).

Uzun süreli günlük oral kolşisin kullanımı göreceli olarak güvenlidir. En sık görülen yan etkileri özellikle yüksek doz kullanımında görülen karın ağrısı ve ishaldir. Ayrıca nadir görülen ve ilaç dozunun azaltılması ile geri dönüşümlü olan diğer yan etkileri; deri döküntüsü, saç dökülmesi, lökopeni, trombositopeni, nöropati,

miyopati, karaciğer hasarı ve sperm fonksiyonlarının zarar görmesidir (27).

Kolşisin tedavisi gebelikte de kullanılabilir ancak dozu 0,5-1 mg/gün dozuna düşürülmeli ve gerektiğinde amniyosentez yapılmalıdır (27).

Son dönem böbrek yetmezliği gelişmiş amioidozisli hastalarda böbrek nakli iyi bir tedavi seçeneğidir ve sonuçları genel böbrek nakli sonuçları ile benzerdir. Son dönem böbrek yetmezliği gelişmiş amioidozisli hastalarda sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanması AAA'da abdominal atak sayısını artırmaktadır (2).

Bazı çalışmalarda anti TNF-α tedavisinin AAA ataklarını azalttığı ve amiloidozis gelişimini önlediği bildirilmiştir. Özellikle kronik kalça artritine sahip AAA'li hastalarda anti TNF-α tedavisine dramatik yanıtlar alınmıştır ancak anti TNF-α tedavisinin etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulduğu belirtilmektedir (6).

2.1.10. Prognoz

Düzenli kolşisin tedavisi hem atak sıklığı ve şiddetini hem de amiloidozis gelişimini engellediğinden prognoz genel olarak günümüzde tek seçenek olan kolşisin tedavisi ile oldukça iyidir ancak kolşisin tedavisinin devamlı ve düzenli kullanılması gerekmektedir. Bu sebeple hastanın tedaviye uyumu ve bu konuda eğitimi oldukça önemlidir (30).

AAA'lı olgular kolşisin tedavisi altında ortalama 4–6 aylık aralar ile mutlaka görülmelidir. İzlem sırasında olguların her birinde oluşabilecek olan anemi, lökopeni, trombositopeni ve kas enzim düzeyleri ile idrar değişiklikleri kontrol edilmelidir. Kolşisin tedavisi ile olgularda genellikle ciddi bir komplikasyon ortaya çıkmamaktadır.

2.2. Tümör Nekrozis Faktör Alfa

TNF-α, güçlü proinflamatuar ve immün yanıtı denetleyen bir sitokindir. TNF-α başka sitokinlerin üretimini, adhezyon moleküllerinin belirginleşmesini, hücrelerin çoğalmasını ve metalloproteinazların üretimini arttırır. TNF-α akut faz yanıtını, vasküler adhezyonu, kemik iliğinde progenitör farklılaşmayı ve apopitozisi regüle eder ve ayrıca nötrofil aktivasyonuna, T ve B lenfositlerin proliferasyonuna ve immunoglobulin sentezinde artışa da yol açar. TNF-α esas olarak monosit ve makrofajlar tarfından sentezlenir ve belirli koşullarda T lenfositler, nötrofiller, mast hücreleri, ve endotel hücreleri senteze katkıda bulunur. TNF-α, 26 kilo dalton ağırlığında membrana bağlı pro-protein şeklinde sentezlenir ve TNF-α dönüştürücü enzim tarafından 17 kilo daltonluk bir monomere çevrilerek 17 kilo dalton ağırlığındaki solubl TNF-α molekülü şeklinde serbestleşir. Olgun TNF-α, çekirdekli hücrelerin çoğunda eksprese edilen TNF reseptör 1 veya TNF reseptör 2'ye bağlanarak etkilerini gösterir (9,10).

TNF-α yanıtı genetik kontrol altındadır ve anlamlı bireysel farklılıklar gösterir. TNF-α'yı kodlayan gen 6. kromozom üzerindeki MHC class III'ün telomerik ucunda 350 kilo bazlık (kb) bölgede ve HLA-B geninin sentromerik kesiminde 250 kb'lık kısımda yer alır. TNF-α gen ekspresyonunun hem transkripsiyonel, hem de post-transkripsiyonel regülasyonu olduğu ve bakteriyel lipopolisakkaridler, mitojenler ve virüsların TNF-α gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (56,57). TNF-α geninin promoter bölgesindeki polimorfizmlerin, transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunu değiştirerek TNF-α sentez hızını değiştirdiği ve bu şekilde hastalık gelişimine eğilim yaratabileceği düşünülmektedir (58).

2.2.1. TNF-α Gen Polimorfizmleri

1-Tek nükleotid polimorfizmleri : Bunlar tek baz değişiklikleri olup ya 5' regulatuar sekanslarda (promoter) yada kodlayıcı bölgeden sonra DNA içinde

herhangi bir bölgede saptanabilirler veya gen ürününü kodlayan DNA içinde bulunurlar. Buna bir örnek TNF-α promoterin regulatör sekansındaki -308 pozisyonudur. TNF-α -308 pozisyonundaki baz, guaninden (TNF1) daha nadir olarak görülen adenine (TNF2) değişerek DNA sekansını değiştirir. Daha nadir görülen TNF-α -308A (TNF2) alleli, daha sık görülen TNF-α -308G (TNF1) allelinden daha güçlü bir transkripsiyon aktivatörüdür. Sıklıkla belirlenen diğer tek nükleotid polimorfizm alanlarından biri de TNF-α promoterdeki TNF-α -238 pozisyonudur (59).

2-İkinci polimorfik değişken tipi DNA mikrosatellittir. Bunlar genom boyunca tüm kromozomlarda dağılırlar ve mRNA'ya transkribe edilmeyen (non-coding) intronlarda bulunan, DNA'nın tekrarlayan dizimleridir. Mikrosatellitlerin DNA'ya sokulması DNA'nın bükülmesini değiştirerek ve transkripsiyon oranlarını etkileyerek, DNA bağlayıcı proteinler ve enzimlerde çeşitli etkilere neden olabilirler (59).

İlk saptanan TNF-α polimorfizmi, Wilson ve arkadaşları tarafından tanımlanan -308 pozisyonunda guaninin alanine dönüştüğü tek baz değişikliği ile karakterize TNF-α -308 polimorfizmidir. Bu polimorfizmde 308G (TNF1) ve 308A (TNF2) allelleri ile G/G, G/A ve A/A genotip yapıları görülür (60).

İkinci tanımlanan TNF-α polimorfizmi, yine tek baz değişikliği ile giden -238 pozisyonunda yer alan guaninin alanine dönüştüğü polimorfizmdir. Bu polimorfizmde de 238G ve 238A allel ile G/G, G/A ve A/A genotip yapıları görülür (61).

Sık görülen diğer iki polimorfizm ise sitozinin alanine dönüştüğü -857 ve -863 pozisyonlarındaki polimorfizmlerdir. Daha nadir olarak -163, -376 ve -574 gen polimorfizmleri de tanımlanmıştır (62).

TNF'nin biyolojik etkileri ve bu sitokini kodlayan genin MHC içindeki yerleşimi, TNF-α genini, MHC ile birliktelik gösteren ve belirgin inflamatuvar aktiviteyle seyreden hastalıkların patogenezinde ilgi uyandıran bir gen durumuna getirmiştir. Belli HLA tipleri ve özellikle de class II (HLA-DR) allellerine eşlik eden TNF-α sentezindeki farklılıkların, bu genin promoter bölgesinde yer alan polimorfizmlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, ilk tanımlanan TNF-α-308 polimorfizminin TNF2 allel yapısının, çeşitli otoimmün hastalıklara

eğilim yaratan HLA-A1, B8 ve DR3 haplotipi ile birliktelik gösterdiği saptanmıştır (63).

Bu şekilde, bu polimorfizmlerin immün aracılı hastalıklara eğilim yaratabileceği ileri sürülmüştür. Otoimmün ve infeksiyöz hastalıkların etyopatogenezinde, TNF-α gen bölgesindeki değişikliklerin rolünün incelendiği çok sayıda araştırma mevcuttur. TNF-α'nın AAA, sistemik lupus eritematozus (SLE), Behçet hastalığı, romatoid artrit (RA), primer Sjögren sendromu ve ankilozan spondilit gibi hastalıkların patogenezinde rolü olduğu ileri sürülmüştür (11-13).

TNF-α'yı kodlayan gen oldukça polimorfiktir ve promotor bölgede -308 pozisyonunda G'nin A'ya değişimi (TNF2) TNF-α'nın üretiminde artışla ilişkili bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada hem Afrika kökenli Amerikalılar hemde beyazlarda HLA-DR3 allelinden bağımsız olarak TNF-α -308 ve SLE gelişimi arasında paralel ilişki olduğu ve TNFα -308 A allelinin SLE'gelişiminde bağımsız bir etkisi olduğu bildirilmektedir. TNF-α 'nın SLE'deki tahmini patofizyolojik rolü , TNF-α üretim kapasitesini etkileyen genetik polimorfizmlerin SLE'nin ortaya çıkmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir (64).

Behçet hastalığının etyopatogenezi tam olarak bilinmemekle beraber, yapılan çalışmalarda periferik kan mononükleer hücre kültür süpernatantlarında veya serum örneklerinde TNF-α'nın arttığı, dolayısıyla TNF geninin yapısı ve ekspresyonundaki değişikliklerin hastalık gelişiminde rolü olabileceği düşünülmüştür. Yapılan az sayıda çalışmada, TNF-α -308A aIlel sıklığı kontrol grubundan farklı bulunmamış olmakla beraber TNF-α gen bölgesindeki polimorfizmlerin hastalık gelişimi veya klinik şiddetinin belirlenmesinde önemli olabileceği bildirilmiştir (65-67).

Romatoid artritin (RA) patogenezinde TNF-α polimorfizminin rolüne ilişkin çelişkili veriler mevcuttur. Bazı çalışmalarda RA'li hastalarda TNF-α polimorfizm sıklığı kontrol grubundan yüksek bulunurken, diğer çalışmalar bu bulguyu desteklememiştir. Ancak, hastalığın sıklığı olmasa da, klinik seyri TNF-α gen polimorfizminden etkilenebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, -238 G/G ve -308 G/G genotiplerine daha ağır klinik seyirin eşlik ettiği ancak TNF-α -308 G/G genotipi TNF-α -308 A/A veya A/G genotipine göre anti TNF-α tedavisine daha iyi yanıt verdiği bildirilmiştir (11).

Primer Sjögren sendromlu hastalarda yapılan bir çalışmada TNF-α -308A allel sıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve yine bu hastalarda yapılan başka bir çalışmada TNF-α -308 gen polimorfizminin renal tutuluma eğilimde katkıda bulunduğu saptanmıştır (68,69).

HLA ile sıkı ilişkisi bulunan ankilozan spondilitli olgularda yapılan çalışmalar, TNF-α gen polimorfizminin hastalık gelişimi ve şiddeti üzerine etkisini net bir şekilde ortaya koyamamıştır. HLA-B27 pozitif hastalarda TNF-α -238A ve -308A aIlel sıklıkları sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak düşük bulunmuş ve bu allel taşıyıcılığının hastalığa eğilimi azalttığı ileri sürülmüştür (70,71).

Psöriasis, dermatitis herpetiformis, alopecia areata gibi immün aracılı hastalıklarda yapılan çalışmalarda da, TNF-α-308A ve -238 allellerinin sıklığı sağlıklı kontrollerden anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve bu polimorfizmlerin kendisinin veya TNF-α ile bağlantı dengesizliği olan bir başka genin psöriazis gelişimine eğilim yaratabileceğini ileri sürmüşlerdir (72,73).

TNF-α geninin promoter bölgesindeki polimorfizmlerin, genelde TNF-α sentezini etkileyerek hastalıklara eğilim yarattığı düşünülmekle beraber, bu konu halen netlik kazanmamıştır. Hem Ponciot ve arkadaşlarının hem de Uglialoro ve arkadaşlarının çalışmalarında, TNF-α -238 G/A polimorfizminin mononükleer hücrelerde TNF-α transkripsiyonu ve sentezi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (14,15).

En sık görülen TNF-α -308 G/A polimorfizminin fonksiyonel rolüne yönelik çalışmalarda ise farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu polimorfizmi taşıyan bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinde TNF-α transkripsiyonu ve sentezinin hem arttığını, hem de etkilenmediğini bildiren çalışmalar mevcuttur (15,62,74,75,76).

Tüm bu çelişkili sonuçlara rağmen, ağırlıklı olarak -308 G/A polimorfizminin bireyler arasındaki TNF-α sentez farklılıklarından sorumlu olduğu ve bu etkisini MHC'den bağımsız olarak gösterdiği kabul edilmektedir (77).

2.3. AAA ve TNF-α

AAA ataklarının oluşumu birçok kompleks olaylar zincirini içermektedir. Sitokin ağının aktivasyonu inflamasyon olayının birçok basamağında devreye girmektedir. Bu nedenle sitokinler AAA hastalarında araştırılmıştır. İlk çalışmalarda, atak sırasında TNF-α düzeyinin düştüğü saptanırken daha sonra yapılan çalışmalarda atak sırasında yükseldiği gösterilmiştir. Dolayısıyla, TNF-α geninin yapısı ve ekspresyonundaki değişikliklerin, hastalık gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmüştür (4,5).

TNF-α'nın AAA'da ki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. TNF-α 'nın proinflamatuar bir sitokin olup AAA ve sekonder amiloidozis gelişiminde majör bir rolü bulunduğuna inanılmaktadır (13). Yapılan çalışmalarda atak esnasında TNF-α düzeyinin azaldığı veya orta düzeyde arttığı, ataklar arasında ise normal veya artmış olduğu saptanmıştır (6-8).

Örün ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TNF-α düzeyleri atakla beraber artış göstermiştir. Bu artış hem tedavi alan hem de almayan hasta gruplarında saptanmıştır. Ancak ilginç olarak istatistiksel olarak anlamlı yükseklik, tedavi alan hasta grubunda görülmüştür. Kolşisin tedavisi alan hastaların atak sırasında TNF-α düzeylerinde belirgin artış olması, atak kliniğinin ancak daha yüksek TNF-α düzeyleri varlığında gerçekleşebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca hastaların her durumunda TNF-α değerleri kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar AAA hastalarında TNF-α'nın atak sırasında gelişen inflamasyon kaskadında ve ataksız dönemde subinflamasyonun oluşumunda önemli bir sitokin olduğunu desteklemektedir (4).

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AAA'lı hastalarda amiloidozis gelişiminde SAA1, SAA2 ve TNF-α -308 gen polimofizminin rolü incelenmiş ve amiloidozis gelişmiş AAA'lı hastalarda TNF-α -308 ve SAA2 gen polimorfizmlerinde, amiloidozis gelişmemiş AAA'lı hastalar ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık saptanmazken, SAA1 lokusundaki alfa/alfa polimorfizminin sıklığında belirgin yükseklik saptanmış ve SAA1 lokusundaki alfa/alfa gen polimorfizminin amiloidozis gelişiminde önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür (78).

Akar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada amiloidozis gelişmiş ve gelişmemiş AAA'lı hastalarla sağlıklı kontrol grubu arasında TNF-α -308 G/A polimorfizmine bakılmış ancak hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (79).

Kobak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 41 AAA'lı hastada TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizmi ile AAA atak sıklığı ve hastalığın gelişimine eğilim arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizmi ile AAA atak sıklığı ve hastalığın gelişimine eğilim arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ancak bu ilişkinin hakkında kesin karar verebilmek için daha fazla ve geniş serilerde çalışmaya gerek olduğu belirtilmiştir. Kobak ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada amiloidozisli hasta sayısı 5 kişi olduğu için, amiloidozis gelişimi ile TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizmi arasındaki ilişki hasta sayısının azlığından dolayı değerlendirilememiştir (80).

Özgöçmen ve arkadaşlarının yayınladığı bir olgu sunumunda 35 yaşında kolşisin ve hastalık modifiye edici ilaçlara dirençli AAA'lı bir hastaya infliximab kullanılmış ve hastanın 72 haftalık takibi sonucunda ateşli abdominal ataklarının tam remisyona girdiği, var olan HLA B 27 (-) spondiloartropatisinin tedaviye iyi cevap verdiği ve daha ileri çalışmalarla TNF alfanın AAA patogenezinde önemli bir role sahip olduğunun gösterilebileceğine ve ilerleyen yıllarda TNF alfaya yönelik tedavilerin AAA tedavisinde bir köşe taşı olacağına inadıklarını bildirmişlerdir (6).

Mor ve arkadaşların yaptığı bir çalışmada TNF-α'nın AAA patogenezinde rolü olduğu ve kolşisine cevap vermeyen bir olguda anti TNF-α ajanı olan etanercept ile yapılan tedavinin başarılı olduğu ve kolşisine cevap vermeyen vakalarda TNF-α blokajının alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (12).

Yine aynı şekilde Metyas ve arkadaşlarının yayınladığı bir vaka bildiriminde ve Nakamura ve arkadaşlarının bildirdiği başka bir vaka bildiriminde kolşisine dirençli bir AAA'lı hastada anti TNF-α ajanı olan infliximab ile yapılan tedavinin başarılı olduğu ve kolşisine cevap vermeyen vakalarda TNF blokajının alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (13,81).

Sitokin genlerindeki fonksiyonel polimorfizmlerin hastalıkla olası ilişkisinin tesbitinin, özellikle bilinen ve uygulanan tedavilere dirençli vakaların tedavisinde

yeni ufuklar açabileceği düşünülmektedir. Çeşitli otoimmün ve immün aracılı hastalıkların tedavisinde anti-TNF ajanların uygulanması, TNF polimorfizmlerinin AAA gelişiminde risk yaratıp yaratmadığı şüphesinde artan bir önem kazanmıştır. Bu nedenle AAA'da TNF polimorfizmlerinin rolünü anlamak, AAA'da TNF-α ve başka sitokinleri hedefleyen tedavilerin planlanmasında yardımcı olabilir.

Bizim amacımız da TNF-α -238 ve -308 gen polimorfizmlerini araştırarak:

1-Türkiye'de AAA gelişiminde genetik yatkınlıkta TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin etkisinin olup olmadığını,

2- TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin hastalığın şiddeti ile ilişkisi olup olmadığını ve bu hastalarda amiloidozis gelişmesinde TNF-α -238 ve TNF-α -308 polimorfizmlerinin etkisinin olup olmadığını,

3-Hastalığın gelişmesini kontrol edebilme ve uygulanan tedavilere dirençli olgularda TNF-α gen bölgesinin hedef oluşturup oluşturamayacağını ortaya çıkarmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Kayıtların Tutulması

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Klinik immunoloji ve Romatoloji Bilim Dalının Polikliniği'ne başvuran daha önceden tanı almış veya yeni tanı alan, Tel Hashomer kriterlerine göre AAA kriterlerini taşıyan erişkin yaş grubundaki bilgilendirilmiş onamları alınmış, gönüllü 106 hastadan ve AAA veya otoimmün hastalık öyküsü bulunmayan erişkin yaş grubundaki 106 sağlıklı erişkin bireyden EDTA'lı tüpe 1 ml periferik venöz kan alınarak örnekler toplandı. Hasta grubunun tutulan kayıtlarında ; hastanın cinsi, yaşı, MEFV gen mutasyonu varlığı, ailesinde AAA hastalığı varlığı, hastalığın başlama ve tanı konma yaşı, düzenli kolşisin başlama yaşı, kullandığı kolşisin dozu, kolşisin kullanımı öncesi atak sıklığı ve atak süresi, kolşisin kullanımı sonrası atak sıklığı ve atak süresi, kolşisin kullanımına yanıt, atakların klinik özellikleri ve amiloidozis varlığı sorgulandı. Hastalardan alınan bilgiler sonrasında Pras ve arkadaşlarının yaptığı hastalık şiddeti skorlaması kriterlerine göre hastalık şiddeti skorlaması yapıldı (46).

3.2. TNF-α -238 ve -308 Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

TNF-α promoterdaki iki polimorfizm -238 A ve -308 A genomlarındaki GG→AA veya G/A allel değişimlerinin hastalıkla ilişkisini incelemek için hastalardan ve sağlıklı kontrollerin pıhtılaşması engellenmiş periferik venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonundan sonra, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılan DNA'larda, kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polimorfizm, RFLP) yöntemi kullanılarak polimorfizmler incelendi. TNF-α geninin promoter bölgesinde tanımlanan guanin-adenin değişiminin olduğu -308 ve -238 nükleotidlerindeki polimorfizmleri içine alan bölge TNF-α gen bölgesine özgül primerler kullanılarak PCR tekniği ile amplifiye edildi.

3.2.1. DNA'nın Elde Edilmesi

DNA örnekleri, %10'luk EDTA'lı tüplere alınmış olan yaklaşık 10 ml periferik venöz kandan, Fermentas Genomic DNA purification kit kullanılarak elde edildi. Elde edilen DNA, moleküler teknikler için kullanılmaya hazır durumda idi.

3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR, bir çeşit in vitro klonlama metodudur. Temel olarak DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin (primerler) hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon); sonrada zincirin uzaması (polimerizasyon) aşamalarından oluşur. Bu basamakların ard arda belirli sayıda yinelenmesiyle hedef DNA her döngüde yaklaşık iki katına çıkar. Bir PCR işleminde 35 döngü sonunda DNA'nın istenilen bir bölgesi yaklaşık 2^{35} kez çoğaltılmış olur. PCR aşamalarında her adım farklı sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Denatürasyon 94-98°C arasında, hibridizasyon 37-65 $^{\circ}$C arasında; polimerizasyon ise 72 $^{\circ}$C'de gerçekleşir.

PCR için gerekenler:

1-DNA örneği ; yaklaşık 50 µg genomik DNA

2-Çoğaltılacak bölgeyi çevreleyen primer çifti; genellikle 18-20 nükleotid uzunluğunda olurlar ve kalıp DNA'ya sağdan ve soldan bağlanarak DNA polimerazın senteze başlaması için gerekli serbest 3' ucunu sağlarlar, son konsantrasyonları 1 mM olmalıdır.

3-dNTP'ler;son konsantrasyonları 2mM olacak şekilde ortamda bulunması gereken dTTP, dCTP, dATP, dGTP bazlarıdır.

4-Isıya dayanıklı DNA-polimeraz enzimi; *Thermus aquaticus*' dan elde edilen termostabil DNA Polimeraz kullanılır.

5-Uygun pH ve iyon koşullarını sağlayan tampon karışımı; kullanılan polimeraz enzimiyle birlikte sağlanır (Fermentas marka). İçeriği 500mM KCl, 100mM Tris-HCl (pH 8.39) ve 15 mM $MgCl_2$ den oluşur. Bütün bu belirtilen maddeler aynı tüpün içine konularak sıcaklık devirleri sağlayan PCR aletinde (Perkin Elmer) PCR işlemi gerçekleştirilir.

Bu çalışmada -308 ve -238 TNF-α polimorfizmlerini belirlemek için kullanılan primer çiftleri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir. Bunlardan -308 G/A polimorfizmini belirlemek için kullanılan primer dizileri; F5'GAG CAA TAG GTT TTG AGC GCC AT 3' ve R5' GGG ACA CAC AAG CAT CAA G 3' (Thermo Electron GmbH, Almanya). -238 G/A polimorfizmini belirlemek için kullanılan primer dizileri ise F5' AAA CAG ACC ACA GAC CTG GTC3' ve R5' CTC ACA CTC CCC ATC CTC CCG GAT C 3'dür (Thermo Electron GmbH, Almanya).

Çalışmamızda yukarıda dizileri belirtilmiş olan iki çift primer kullanılmıştır. PCR reaksiyonları için, dTTP, dCTP, dATP, dGTP bazlarının (Fermantas, Litvanya) son konsantrasyonları 2mM olacak şekilde ayarlanmıştır. Taq DNA Polimeraz (Fermantas, Litvanya), bütün PCR reaksiyonları için bir ünite kullanılmıştır. Primerlerin son konsantrasyonları, 0.6 mM olacak şekilde ayarlanmıştır. Son hacim 25 µl olacak şekilde, tampon ve distile su eklenerek PCR tüpleri ile alete konulmuştur. Bütün PCR reaksiyonlarınında 94ºC'de 4dk başlangıç denatürasyonu ve 72ºC de 7 dk bir son uzama gerçekleştirilmiştir. -308A/G polimorfizmini saptamak için gerçekleştirilen PCR sıcaklıkları , 94 ºC de 50 sn, 54ºC de 50 sn, 72ºC 50 sn olmak üzere 35 döngü olarak belirlenmiştir. -238 A/G polimorfizmini saptamak için de; 94 ºC de 50 sn, 59 ºC de 50 sn, 72 ºC de 50 sn ve toplam 35 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon, endonükleaz enzimleri spesifik dizileri tanıyarak çift iplikçikli DNA'nın her iki zincirindeki fosfodiester bağlarını keserek DNA'yı iki ayrı parçaya ayırır. RFLP , DNA üzerindeki polimorfizmlerin herhangi bir restriksiyon enziminin kesim noktasını ortadan kaldırması ya da herhangi bir restriksiyon endonükleaz için kesim noktası yaratmasına dayanarak oluşan uzunluk farklılıklarına göre nükleotid değişikliklerini saptamaya yarayan bir yöntemdir. Bu çalışmada gerçekleştirilen enzimle kesim analizleri için reaksiyon tüpü başına 10 ünite enzim kullanılmıştır. PCR ürünleriyle enzimlerin reaksiyon süreleri 12-16 saat olarak gerçekleştirilmiştir. Aşağıda bu çalışmada kullanılan restriksiyon endonükleazlar, enzimlerin tanıma

dizileri ve optimum aktivite gösterdikleri sıcaklık dereceleri verilmiştir.

NcoI (Fermantas/ Litvanya) tanıdığı dizi; 5'.... CCATGG.....3',
aktivite gösterdiği optimum sıcaklık değeri 37ºC.

BamHI (Fermantas/ Litvanya) tanıdığı dizi 5'.....GGATCC.....3'
aktivite gösterdiği optimum sıcaklık değeri 37 ºC.

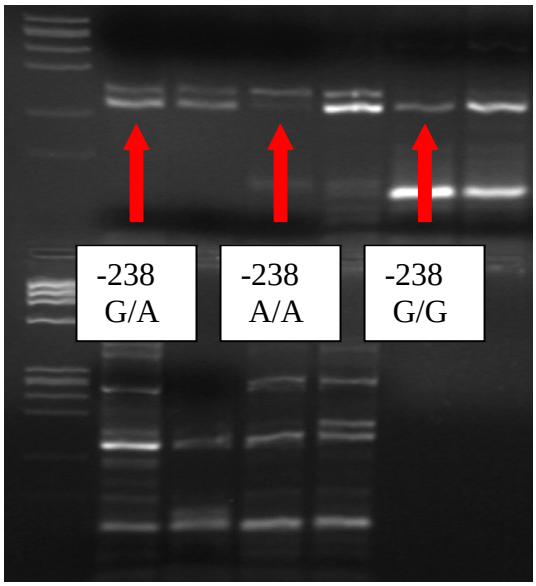
TNF-α -308 G/A polimorfizmini tayin etmek için PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmış olan bölge *NcoI* restriksiyon enzimiyle muamele edilmiştir. Enzim -308G homozigot olduğu durumlarda PCR ürününü kesmektedir. -308A durumunda ise; enzim DNA üzerinde kesim noktası olmadığı için PCR ürününü kesmemekte, bu polimorfizmleri heterozigot taşıdığı durumlarda ise bir aleli kesip diğerinin kesmediği için iki ayrı bant vermektedir.

TNF-α -238 G/A polimiorfizmini tayin etmek için PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmış olan bölge BamHI restriksiyon enzimiyle muamele edilmiştir. Enzim -238G homozigot olduğu durumlarda PCR ürününü kesmektedir. -238A durumunda ise; enzim DNA üzerinde kesim noktası olmadığı için PCR ürününü kesmemekte, bu polimorfizmleri heterozigot taşıdığı durumlarda ise bir aleli kesip diğerinin kesmediği için iki ayrı bant vermektedir.

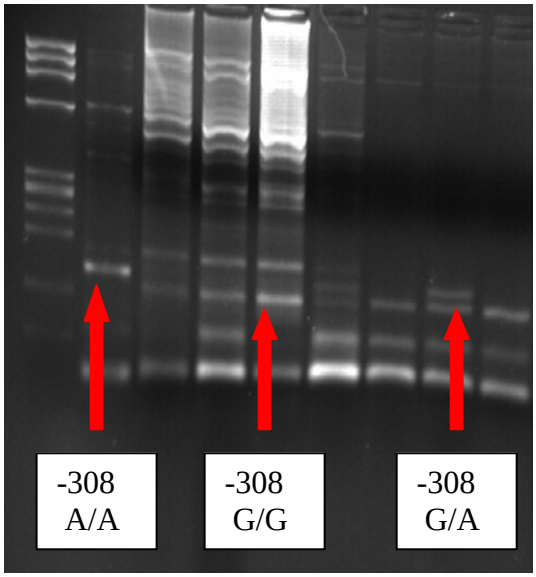
PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi yapılarak incelenmiştir. Agaroz (Sigma, ABD), incelenecek olan bantların büyüklüğüne göre %3 ağırlık/hacim oranına göre hazırlanır. Son hacmi 150 ml olacak %3'lik bir agaroz jel hazırlamak için 4.5 gr agarozun üzerine 150 ml'ye tamamlayacak şekilde 1xTBE eklenir, mikrodalga fırında (Regal, Türkiye) eritilerek jel tabağına (Owl Scientefic, ABD) dökülür. Agarozun donması için yaklaşık 15 dakika beklenir ve elektroforez tankına (Owl Scientefic, ABD) yerleştirilir. Örnekler, yüklendikten sonra elektrik akımı yardımıyla jelde yürütülür. Jel ultraviyole ışık altında (Spectroline, ABD) DNA' ya bağlanan etidyum bromitin parlamasıyla incelenir, bir kamera yardımıyla bilgisayar ortamına aktarılarak (Alpha Imager, ABD) fotoğrafları alınır.

3.2.4. PCR ve RFLP Sonuçlarının Elektroforez Sonrasında Agaroz Jelde İncelenmesi

PCR ürünleri, %3 lük agaroz jele yüklenerek 150V da yaklaşık 45 dakika elektroforeze tabi tutulduktan den sonra U.V ışık altında incelenir. PCR bantları net bir şekilde görülen örnekler polimorfizmleri saptamak amacıyla RFLP yöntemiyle incelenirler. Enzimle kesim sonrasında elde edilen görüntüler, fotoğraflanarak saklanır (şekil 3.2.4.1 ve şekil 3.2.4.2). Bu çalışmada da bu prensipler doğrultusunda değerlendirmeler yapılmıştır.



Şekil 3.2.4.1. TNF-α -238 genindeki polimorfizmin agaroz jel elektroforez görüntüsü



Şekil 3.2.4.2. TNF-α -308 genindeki polimorfizmin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

3.3. İstatistik Analizi

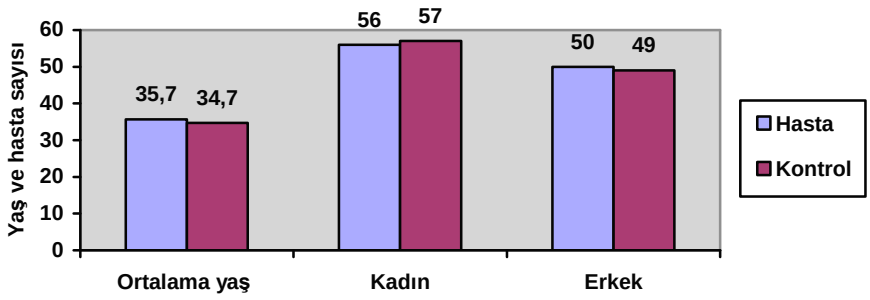
İstatistiksel analizler SPSS 10.0 bilgisayar paket programında yapıldı. İstatistik olarak sıklık değerleri, yüzde değerleri, ortalama, standart sapma, Mann Whitney U testi, varyans analizi ve ki kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan 106 hastanın ortalama yaşı 35,7 yaş dağılımı ise 18-78 arasındaydı. Hastalardan 56 kişi (%52,8) kadın, 50 kişi (%47,2) erkekti. Çalışmaya katılan 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunun ise ortalama yaşı 34,7 yaş dağılımı ise 19-61 arasındaydı. Kontrol grubunda 49 kişi (%46,2) erkek, 57 kişi (%53,8) kadındı (tablo 4.1 ve şekil 4.1). Cinsiyet ve yaş açısından, hasta ve kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı

Özellik	Hasta	Kontrol
Ortalama yaş	35,7 (18-78)	34,7 (19-61)
Kadın	56 (%52,8)	57 (% 53,8)
Erkek	50 (%47,2)	49 (% 46,2)
Toplam	106 (% 100)	106 (% 100)

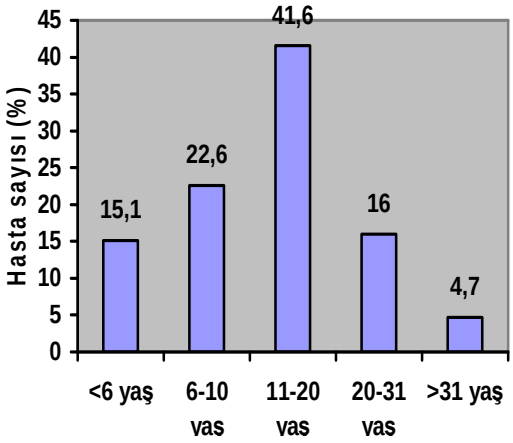


Şekil 4.1. Çalışma gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı

Çalışmaya alınan 106 hasta, hastalığın başlangıç yaşına göre 5 gruba ayrıldılar. 16 kişi (%15,1) 6 yaş altında, 24 kişi (%22,6) 6-10 yaş arası, 44 kişi (%41,6) 11-20 yaş arası, 17 kişi (%16) 21-31 yaş arası ve 5 kişi de (%4,7) 31 yaş üstünde saptandı (tablo 4.2 ve şekil 4.2).

Tablo 4.2. Başlangıç yaşına göre AAA hastalarının değerlendirilmesi

Yaş	Hasta
<6 yaş	16 (% 15,1)
6-10 yaş	24 (% 22,6)
11-20 yaş	44 (% 41,6)
21-31 yaş	17 (% 16,0)
>31 yaş	5 (% 4,7)
Toplam hasta	106 (% 100)

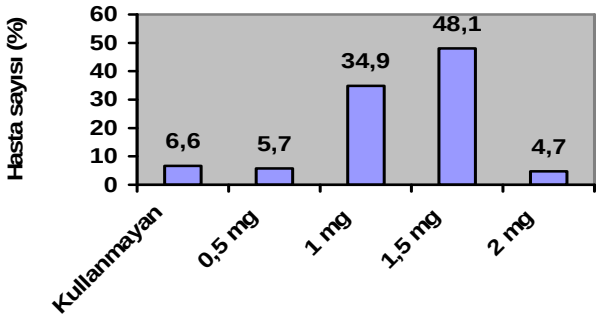


Şekil 4.2. Başlangıç yaşına göre AAA hastalarının değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 106 hastanın kolşisin kullanım dozlarına baktığımızda, 6 kişi (%5,7) 0,5 mg, 37 kişi (%34,9) 1 mg, 51 kişi (%48,1) 1,5 mg ve 5 kişi (%4,7) 2 mg kullanırken, 7 kişi (%6,6) ise kolşisin kullanmıyordu (tablo 4.3 ve şekil 4.3).

Tablo 4.3. AAA'lı hastaların günlük kolşisin dozları

Kolşisin dozu	Hasta
Kullanmayanlar	7 (% 6,6)
0,5mg kullananlar	6 (% 5,7)
1mg kullananlar	37 (% 34,9)
1,5mg kullananlar	51 (% 48,1)
2mg kullananlar	5 (% 4,7)
Toplam	106 (% 100)

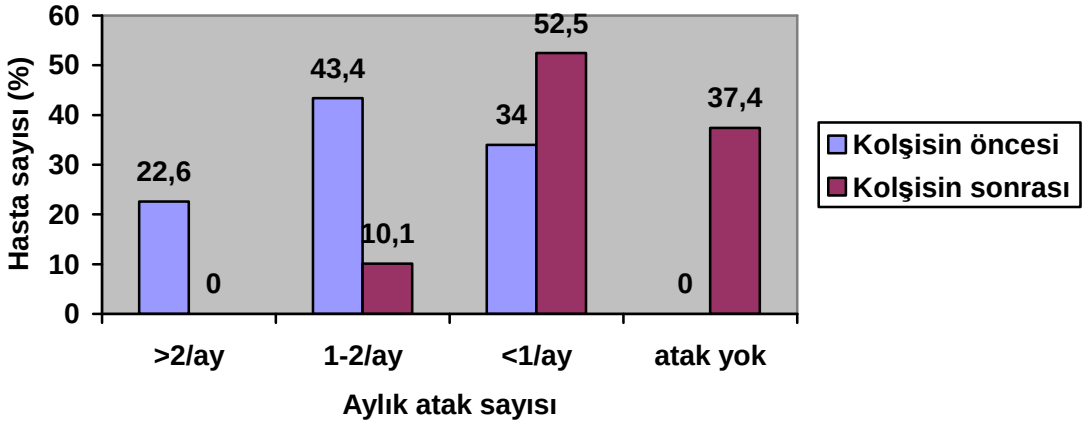


Şekil 4.3. AAA'lı hastaların günlük kolşisin dozları

Çalışmaya alınan 106 hasta aylık atak sayısına göre 4 gruba ayrıldılar. 106 hastanın kolşisin kullanımı öncesi aylık atak sayısına bakıldığında, 36 kişi (%34) <1 atak, 46 kişi (%43,4) 1-2 arası atak, 24 kişi de (%22,6) >2 atak olarak saptandı. Çalışmaya alınan 106 hastanın 99'u kolşisin kullanırken 7 hasta ise kolşisin kullanmıyordu. 99 hastanın kolşisin kullanımı sonrası aylık atak sayısına bakıldığında, 52 kişi (%52,5) <1, 10 kişi (%10,1) 1-2 arası saptanırken, hiçbir hastada aylık atak sayısı 2'nin üzerinde değildi ve 37 kişide (%37,4) hiç atak saptanmamıştı (tablo 4.4 ve şekil 4.4). Kolşisin kullanımı öncesi ve sonrası aylık atak sayısı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kolşisin kullanımı sonrası aylık atak sayısı daha azdı (p<0,001).

Tablo 4.4. AAA'lı hastalarda kolşisin kullanımı öncesi ve sonrası aylık atak sayısı

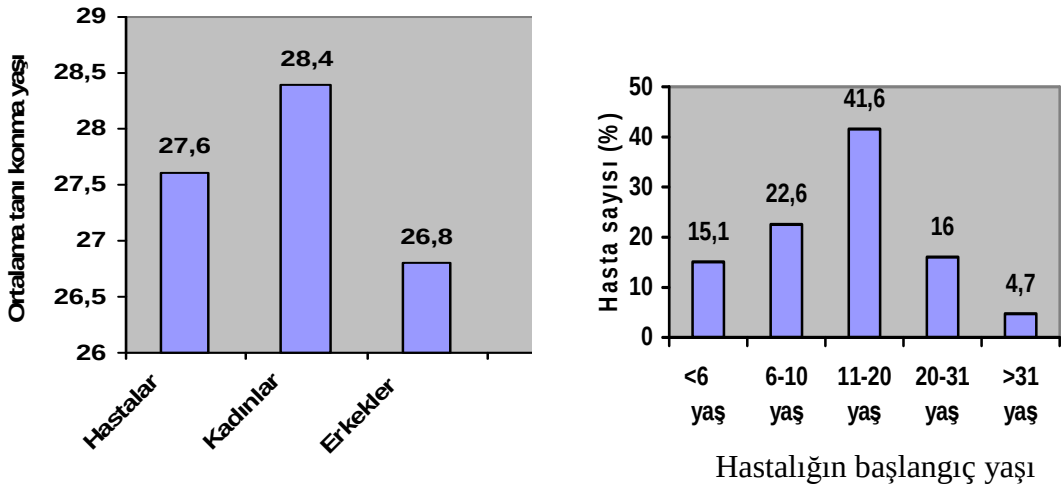
Aylık atak sayısı	Hasta sayısı (Kolşisin öncesi)	Hasta sayısı (Kolşisin sonrası)
Atak yok	0 (% 0)	37 (% 37,4)
1'in altında	36 (% 34)	52 (% 52,5)
1-2 arası	46 (% 43,4)	10 (% 10,1)
2'nin üstünde	24 (% 22,6)	0 (% 0)
Toplam	106 (% 100)	99 (% 100)



Şekil 4.4. AAA'lı hastalarda kolşisin kullanımı öncesi ve sonrası aylık atak sayısı

Çalışmaya alınan hastaların cinsiyetlerine göre; ortalama tanı yaşı, ailesinde AAA varlığı, ateş , karın ağrısı , artrit , uzamış artralji , plörezi , perikardit , erizipel, amiloidozis varlığı, kolşisine yanıt durumu ve taşıdıkları MEFV gen mutasyonuna bakıldı (tablo 4.5).

Çalışmaya alınan 106 hastanın ortalama tanı konduğu yaş 27,6 (8-65) iken, kadınların ortalama tanı konma yaşı 28,4 (8-65), erkeklerin ortalama tanı konma yaşı ise 26,8 (9-62) olarak saptandı (şekil 4.5). Ortalama tanı konma yaşı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).



Şekil 4.5. AAA hastalığının başlangıç ve tanı konma yaşı

Çalışmaya alınan 106 hastanın 52'sinde (%49,1) AAA açısından aile hikayesi varken, bu 52 hastanın 25 kişisini (%48,1) kadınlar, 27 kişisini (%51,9) erkekler oluşturuyordu ve aile hikayesi varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın tamamında ateş vardı. 106 hastanın 56'sı (%52,8) kadın, 50'si (%47,2) erkekti.

Çalışmaya alınan 106 hastanın 103'ünde (%98,1) karın ağrısı varken, bu 103 hastanın 54 kişisini (%52,4) kadınlar, 49 kişisini (%47,6) erkekler oluşturuyordu ve karın ağrısı varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın 4'ünde (%3,8) uzamış artralji varken, bu 4 hastanın 1 kişisini (%25) kadın, 3 kişisini (%75) erkekler oluşturuyordu ve uzamış artralji varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın 28'inde (%26,4) plörezi varken, bu 28 hastanın 12 kişisini (%42,9) kadınlar, 16 kişisini (%57,1) erkekler oluşturuyordu ve plörezi varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın 7'sinde (%6,6) perikardit varken, bu 7 hastanın 4 kişisini (%57,1) kadınlar, 3 kişisini (%42,9) erkekler oluşturuyordu ve perikardit varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

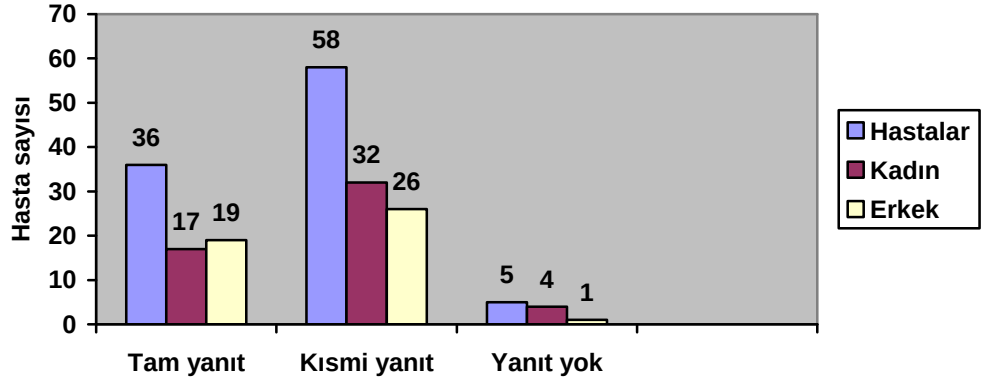
Çalışmaya alınan 106 hastanın 12'sinde (%11,3) erizipel varken, bu 12 hastanın 5 kişisini (%41,7) kadınlar, 7 kişisini (%58,3) erkekler oluşturuyordu ve erizipel varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın 24'ünde (%22,6) amiloidozis varken, bu 24 hastanın 10 kişisini (%41,7) kadınlar, 14 kişisini (%58,3) erkekler oluşturuyordu ve amiloidozis varlığı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Çalışmaya alınan 106 hastanın 99'u (%93,3) kolşisin kulanmaktaydı ve bu 99 hastanın 53 kişisini (%53,5) kadınlar, 46 kişisini (%46,5) erkekler oluşturuyordu ve kolşisin kullanımı açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

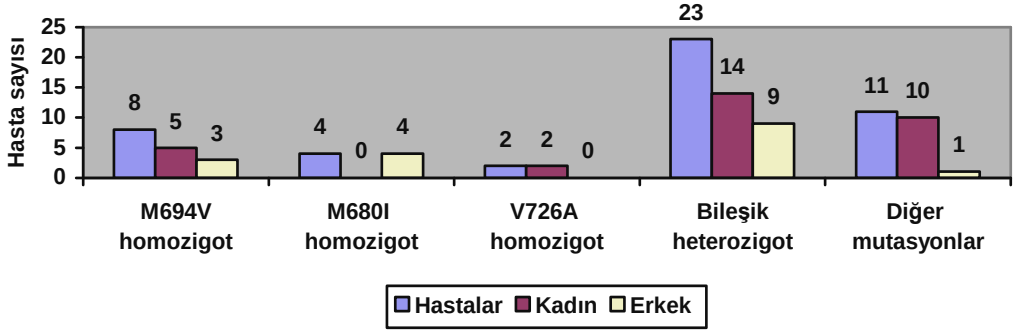
Kolşisin kullanan 99 hastadan 36 kişide (%36,4) tam yanıt, 58 kişide (%58,6) kısmi yanıt saptanırken 5 kişide (%5,1) yanıt alınamadı. Tam yanıt alınan 36 hastanın 17 kişisini (%47,2) kadınlar, 19 kişisini (%52,8) erkekler, kısmi yanıt alınan 58 hastanın 32 kişisini (%55,2) kadınlar, 26 kişisini (%44,8) erkekler, yanıt alınamayan 5 hastanın ise 4 kişisini (%80) kadınlar, 1 kişisini (%20) erkekler oluşturuyordu (şekil 4.6). Kolşisin kullanımı sonrası tam ve kısmi yanıt açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05) ancak

yanıtsız hasta sayısı az olduğu için yanıtsızlık açısından kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.



Şekil 4.6. AAA'lı hastaların kolşisin yanıt oranları

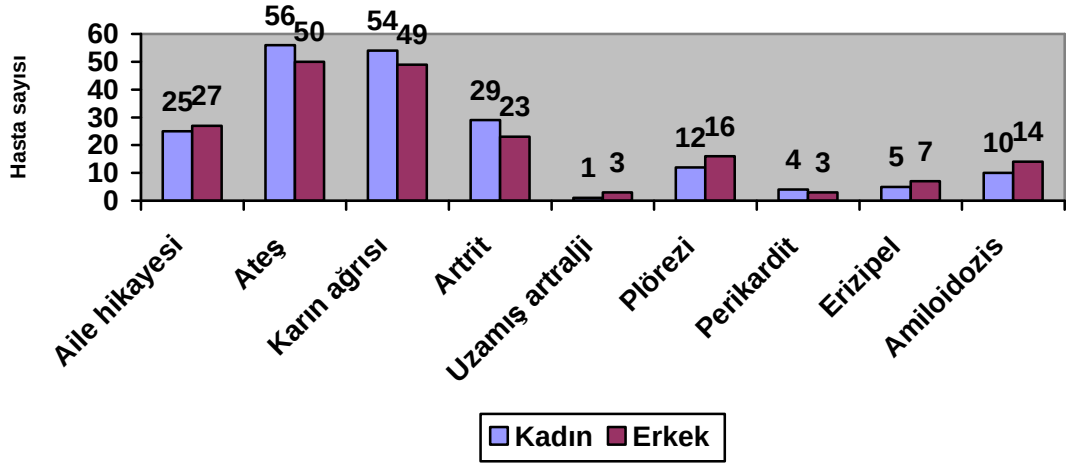
Çalışmaya katılan 106 hastadan 48 kişide (%45,2) MEFV gen mutasyonu bakılmıştı ve bu 48 hastanın 31'ini (%64,5) kadınlar, 17'sini (%34,5) erkekler oluşturuyordu. MEFV gen mutasyonu çalışılmış 48 hastadan 8'inde (%16,7) M694V homozigot, 4 'ünde (%8,3) M680I homozigot, 2'sinde (%4,2) V726A homozigot, 23' ünde (%47,9) bileşik heterozigot (M680I/V726A, M694V/M680I, M694V/V726A, M694V/E148Q, M694V/R202Q) ve 11'inde (%22,9) diğer mutasyonlar (M694V heterozigot, M680I heterozigot, V726A heterozigot, E128Q heterozigot ve R202Q homozigot) saptandı (şekil 4.7). MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için MEFV gen mutasyonu farklılıkları açısından kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.



Şekil 4.7. Hastaların MEFV gen mutasyonlarına göre dağılımı

Tablo 4.5. Hastaların özelliklerinin cinsiyete göre dağılımı

Özellik	Hasta	Kadın	Erkek
Ortalama tanı yaşı	27,6 (8-65)	28,4 (8-65)	26,8 (9-62)
Ailesinde AAA varlığı	52 (% 49,1)	25 (% 48,1)	27 (%51,9)
Ateş varlığı	106 (% 100)	56 (% 52,8)	50 (%47,2)
Karın ağrısı varlığı	103 (%98,1)	54 (%52,4)	49 (%47,6)
Artrit varlığı	52 (%49,1)	29 (%55,8)	23 (%44,2)
Uzamış artralji varlığı	4 (%3,8)	1 (%25,0)	3 (%75,0)
Plörezi varlığı	28 (%26,4)	12 (%42,9)	16 (%57,1)
Perikardit varlığı	7 (%6,6)	4 (%57,1)	3 (%42,9)
Erizipel varlığı	12 (%11,3)	5 (%41,7)	7 (%58,3)
Amiloidozis varlığı	24 (%22,6)	10 (%41,7)	14 (%58,3)
Kolşisin kullanımı	99 (%93,3)	53 (%53,5)	46 (%46,5)
Tam yanıt	36 (%36,4)	17 (%47,2)	19 (%52,8)
Kısmi yanıt	58 (%58,5)	32 (%55,2)	26 (%44,8)
Yanıt yok	5 (%5,1)	4 (%80,0)	1 (%20,0)
MEFV gen mutasyonu	48 (%45,2)	31 (%64,5)	17 (%35,5)
M694V homozigot	8 (%16,7)	5 (%62,5)	3 (%37,5)
M680I homozigot	4 (%8,3)	0 (%0)	4 (%100)
V726A homozigot	2 (%4,2)	2 (%100)	0 (%0)
Bileşik heterozigot	23 (%47,9)	14 (%60,9)	9 (%39,1)
Diğer mutasyonlar	11 (%22,9)	10 (%90,9)	1 (%9,1)



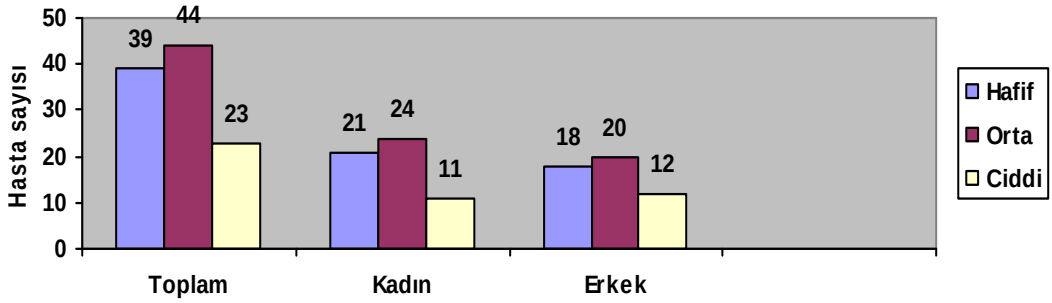
Şekil 4.8. AAA'lı hastalarda klinik bulguların varlığı ile cinsiyet arasındaki ilişki

Çalışmaya katılan 106 hasta AAA'nın başlangıç yaşı, aylık atak sayısı, artrit varlığı, erizipel varlığı, amiloidozis varlığı, ve kolşisin kullanım dozu dikkate alınarak Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık şiddeti skorlamasına göre skorlandırıldı (29,30). Çalışmaya katılan 106 hastadan 39 kişide (%36,8) hafif şiddette, 44 kişide (%41,5) orta şiddette, 23 kişide (%21,7) ise ciddi şiddette hastalık saptandı.

Hafif şiddette hastalığı olan 36 hastanın 21 kişisini (%53,8) kadınlar, 18 kişisini (%46,2) erkekler, orta şiddette hastalığı olan 44 hastanın 24 kişisini (%54,5) kadınlar, 20 kişisini (%45,5) erkekler, ciddi şiddette hastalığı olan 23 hastanın ise 11 kişisini (%47,8) kadınlar, 12 kişisini (%52,2) erkekler oluşturuyordu (tablo 4.6 ve şekil 4.9). Hastalık şiddeti açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

Tablo 4.6. AAA'lı hastaların hastalık şiddetinin değerlendirilmesi

Hastalık şiddeti	Hasta	Kadın	Erkek
Hafif	39 (%36,8)	21 (%53,8)	18 (%46,2)
Orta	44 (%41,5)	24 (%54,5)	20 (%45,5)
Ciddi	23 (%21,7)	11 (%47,8)	12 (%52,2)

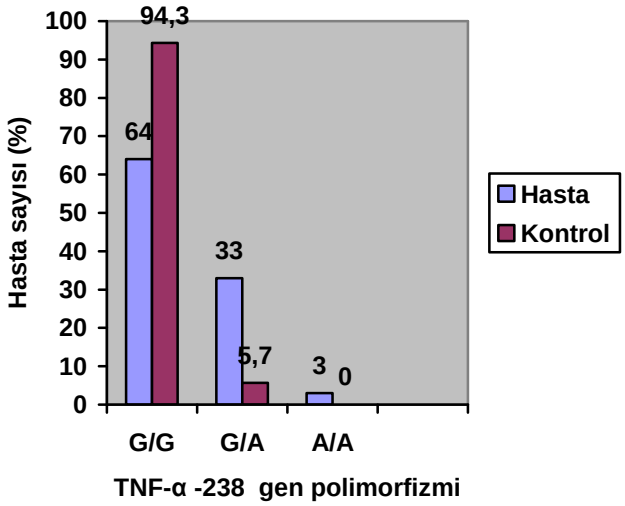


Şekil 4.9. AAA'lı hastaların hastalık şiddetinin değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 106 hastanın 100'ünde TNF-α-238 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 100 hastanın 64'ünde (%64) -238 G/G polimorfizmi, 33'ünde (%33) -238 G/A polimorfizmi ve 3'ünde (%3) -238 A/A polimorfizmi saptandı. -238 G/G polimorfizmi saptanan 64 hastanın 38 kişisini (%59,4) kadınlar, 26 kişisini (%40,6) erkekler, -238 G/A polimorfizmi saptanan 33 hastanın 13 kişisini (%39,4) kadınlar, 20 kişisini (%60,6) erkekler, -238 A/A polimorfizmi saptanan 3 hastanın ise 2 kişisini (%66,7) kadınlar, 1 kişisini (%33,3) erkekler oluşturuyordu. Çalışmaya alınan 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda ise 106 kişinin tamamında TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 106 kişinin 100'ünde (%94,3) -238 G/G polimorfizmi ve 6'sında (%5,7) -238 G/A polimorfizmi saptanırken hiç kimsede -238 A/A polimorfizmi saptanmadı. -238 G/G polimorfizmi saptanan 100 kişinin 54 kişisini (%54) kadınlar, 46 kişisini (%46) erkekler, -238 G/A polimorfizmi saptanan 6 kişinin ise 3 kişisini (%50) kadınlar, 3 kişisini de (%50) erkekler oluşturuyordu (tablo 4.7 ve şekil 4.10). -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması ve kontrol grubunda hiç kimsede -238 A/A polimorfizmi olmadığı için, -238 A/A polimorfizminin hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak **-238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak -238 G/A polimorfizmi daha fazla saptandı (p<0,001). %95 güven aralığında Odds Ratio 8,6 (3,4 - 21,7) olarak hesaplandı. Yani TNF-α -238 G/A polimorfizmine sahip olmanın TNF-α -238 G/G polimorfizmine sahip olmaya göre hastalık gelişme riskini 8.6 kat (3,4 - 21,7) artırdığı saptandı. Ayrıca -238 G/A polimorfizminin hastalığı saptamadaki sensitivitesi %34, spesifitesi ise %94 olarak saptandı.**

Tablo 4.7. Çalışma gruplarındaki TNF-α -238 gen polimorfizmleri

Genotip	Hasta	Kontrol
-238 G/G	64 (%64)	100 (%94,3)
Kadın	38 (%59,4)	54 (%54)
Erkek	26 (%40,6)	46 (%46)
-238 G/A	33 (%33)	6 (%5,7)
Kadın	13 (%39,4)	3 (%50)
Erkek	20 (%60,6)	3 (%50)
-238 A/A	3 (%3)	0 (%0)
Kadın	2 (%66,7)	0 (%0)
Erkek	1 (%33,3)	0 (%0)
P <0,001 Odds Ratio: 8,6 (3,4 - 21,7) Sensitivite: %34 Spesifite: %94		

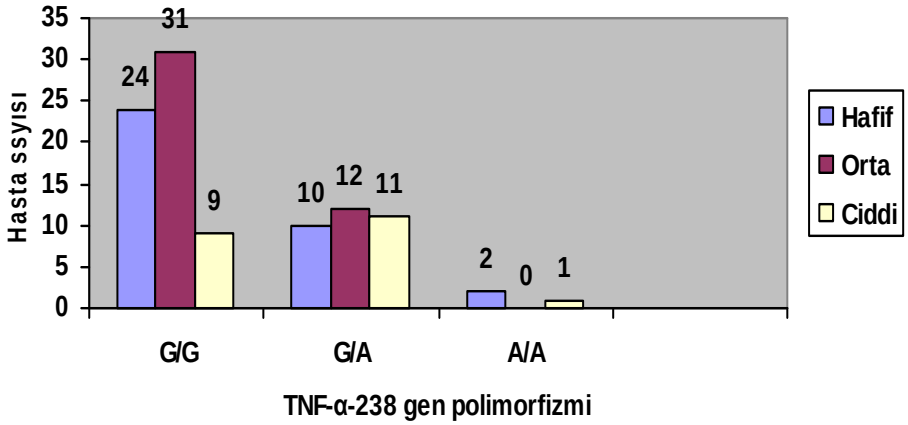


Şekil 4.10. Çalışma gruplarındaki TNF-α -238 gen polimorfizmleri

TNF-α -238 G/G polimorfizmi saptanan 64 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 24 kişide (%37,5) hafif şiddette, 31 kişide (%48,4) orta şiddette ve 9 kişide (%14,1) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -238 G/A polimorfizmi saptanan 33 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 10 kişide (%30,3) hafif şiddette, 12 kişide (%36,4) orta şiddette ve 11 kişide (%33,3) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -238 A/A polimorfizmi saptanan 3 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 2 kişide (%66,7) hafif şiddette, 1 kişide ise (%33,3) ciddi şiddette hastalık saptandı (tablo 4.8 ve şekil 4.11). -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, hastalık şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalık şiddeti ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.8. TNF-α-238 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi

Özellik	Hafif	Orta	Ciddi
-238 G/G	24 (%37,5)	31 (%48,4)	9 (%14,1)
Kadın	14 (%58,3)	18 (%58,1)	6 (%66,7)
Erkek	10 (%41,7)	13 (%41,9)	3 (%33,3)
-238 G/A	10 (%30,3)	12 (%36,4)	11 (%33,3)
Kadın	5 (%50,0)	5 (%41,7)	3 (%27,3)
Erkek	5 (%50,0)	7 (%58,3)	8 (%72,7)
-238 A/A	2 (%66,7)	0 (%0)	1 (%33,3)
Kadın	1 (%50,0)	0 (%0)	1 (%100)
Erkek	1 (%50,0)	0 (%0)	0 (%0)



Şekil 4.11. TNF-α-238 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın, TNF-α -238 gen polimorfizmine göre; ailesinde AAA varlığı, ateş, karın ağrısı varlığı, artrit, uzamış artralji, plörezi, perikardit, erizipel, amiloidozis varlığı, kolşisine yanıt durumu ve taşıdıkları MEFV gen mutasyonuna bakıldı (tablo 4.9 ve şekil 4.14).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 50'sinde (%50) aile hikayesi varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 31 kişide (%48.4), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 17 kişide (%51,5) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 2 kişide (%66,7) aile hikayesi vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, aile hikayesi varlığı

açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, aile hikayesi varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın tamanında (%100) ateş vardı Hastaların tamamında ateş olduğu için ateş varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 98'inde (%98) karın ağrısı varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 63 kişide (%98.4), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 32 kişide (%97) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 3 kişide (%100) karın ağrısı vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, karın ağrısı varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, karın ağrısı varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 50'sinde (%50) artrit varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 30 kişide (%46,9), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 19 kişide (%57,6) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%33,3) artrit vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, artrit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, artrit varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 4'ünde (%4) uzamış artralji varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%1,6), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 2 kişide (%6,1) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%33,3) uzamış artralji vardı. Uzamış artralji varlığı olan hasta sayısının az olması nedeni ile, uzamış artralji varlığı ile

TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

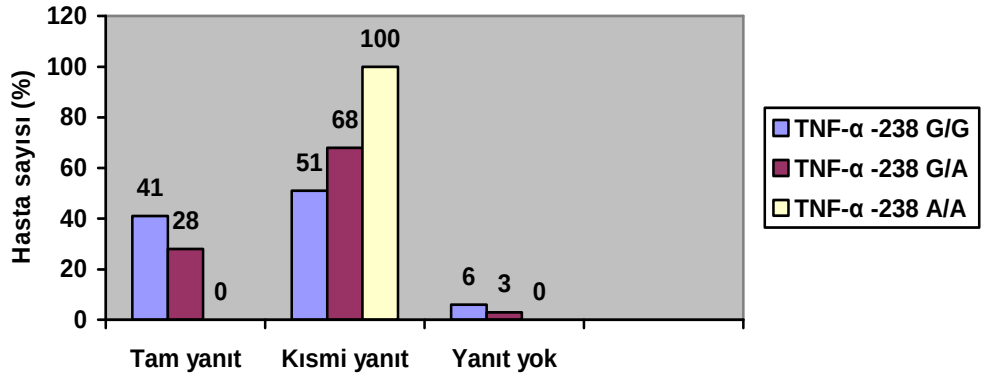
TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 24'ünde (%24) plörezi varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 17 kişide (%26,6), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 7 kişide (%21,2) plörezi vardı. TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede plörezi yoktu. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta olmaması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, plörezi varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, plörezi varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 6'sında (%6) perikardit varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 4 kişide (%6,3), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 2 kişide (%6,1) perikardit vardı. TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede perikardit yoktu. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta olmaması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, perikardit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, perikardit varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 12'sinde (%12) erizipel varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 7 kişide (%10,9), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 4 kişide (%12,1) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%33,3) erizipel vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, erizipel varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, erizipel varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

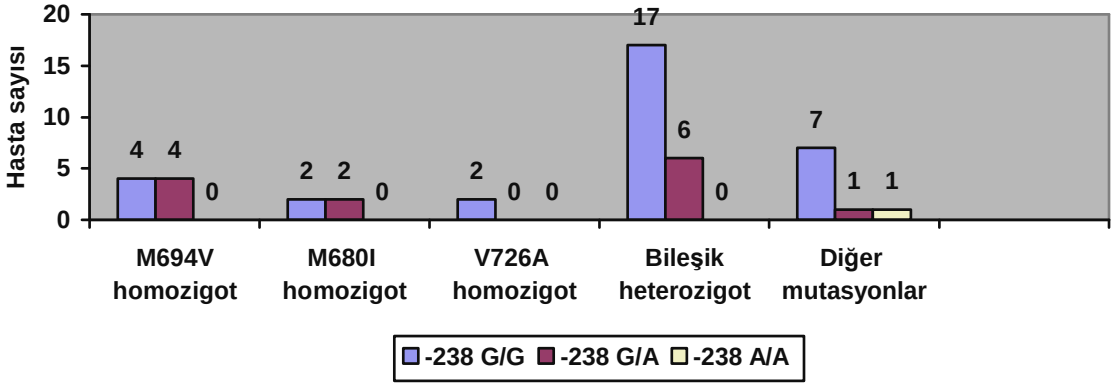
TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 23'ünde (%23) amiloidozis varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 14 kişide (%21,9), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 8 kişide (%24,2) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%33,3) amiloidozis vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, amiloidozis varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, amiloidozis varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 93'ü (%93) kolşisin kullanıyordu. Kolşisin kullanan 93 hastanın 33'ünde (%35,5) tam yanıt, 55'inde (%59,1) kısmi yanıt varken 5 hastada (%5,4) yanıt yoktu. TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 24 kişide (%41,4), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 9 kişide (%28,1) tam yanıt varken, TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede tam yanıt yoktu. TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 30 kişide (%51,7), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 22 kişide (%68,8) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 3 kişide (%100) kısmi yanıt vardı. TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 4 kişide (%6,9), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%3,1) kolşisine yanıtsızlık varken, TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede yanıtsızlık yoktu. Kolşisine yanıtsız hasta sayısı az olduğu için, kolşine yanıt durumu ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi (şekil 4.12).



Şekil 4.12. TNF-α -238 gen polimorfizmi ile kolşisin yanıtı arasındaki ilişki

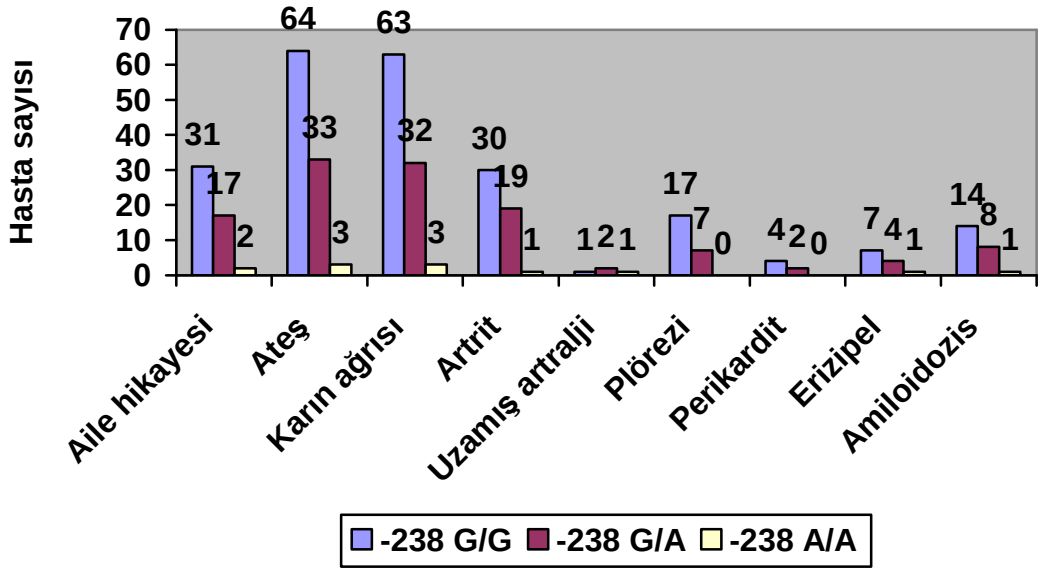
TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 46'sında (%46) MEFV gen mutasyonu çalışılmıştı. MEFV gen mutasyonu çalışılmış 46 hastadan 8 kişide (%17,4) M694V homozigot, 4 kişide (%8,7) M680I homozigot, 2 kişide (%4,3) V726A homozigot, 23 kişide (%50) bileşik heterozigot ve 9 kişide (%19,6) diğer mutasyonlar saptandı (şekil 4.13). MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için MEFV gen mutasyonu farklılıkları ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.



Şekil 4.13. MEFV gen mutasyonu ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

Tablo 4.9. TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalık özelliklerinin ilişkisi

Özellik	Hasta	-238 G/G	-238 G/A	-238 A/A
Ailesinde AAA varlığı	50 (%50)	31 (%48,4)	17 (%51,5)	2 (%66,7)
Ateş varlığı	100 (%100)	64 (%100)	33 (%100)	3 (%100)
Karın ağrısı varlığı	98 (%98)	63 (%98,4)	32 (%97)	3 (%100)
Artrit varlığı	50 (%50)	30 (%46,9)	19 (%57,6)	1 (%33,3)
Uzamış artralji varlığı	4 (%4)	1 (%1,6)	2 (%6,1)	1 (%33,3)
Plörezi varlığı	24 (%24)	17 (%26,6)	7 (%21,2)	0 (%0)
Perikardit varlığı	6 (%6)	4 (%6,3)	2 (%6,1)	0 (%0)
Erizipel varlığı	12 (%12)	7 (%10,9)	4 (%12,1)	1 (%33,3)
Amiloidozis varlığı	23 (%23)	14 (%21,9)	8 (%24,2)	1 (%33,3)
Kolşisine yanıt Tam yanıt Kısmi yanıt Yanıt yok	 33 (%35,5) 55 (%59,1) 5 (%5,4)	 24 (%41,4) 30 (%51,7) 4 (%6,9)	 9 (%28,1) 22 (%68,8) 1 (%3,1)	 0 (%0) 3 (%100) 0 (%0)
MEFV gen mutasyonu M694V homozigot M680I homozigot V726A homozigot Bileşik heterozigot Diğer mutasyonlar	 8 (%17,4) 4 (%8,7) 2 (%4,3) 23 (%50) 9 (%19,6)	 4 (%12,5) 2 (%6,3) 2 (%6,3) 17 (%53,1) 7 (%21,9)	 4 (%30,8) 2 (%15,4) 0 (%0) 6 (%46,2) 1 (%7,7)	 0 (%0) 0 (%0) 0 (%0) 0 (%0) 1 (%100)



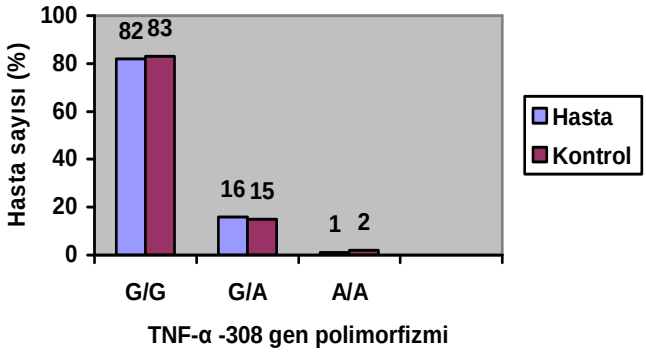
Şekil 4.14. AAA'lı hastalarda klinik bulguların varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

Çalışmaya alınan 106 hastanın 85'inde TNF-α-308 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 85 hastanın 70'inde (%82,4) -308 G/G polimorfizmi, 14'ünde (%16,5) -308 G/A polimorfizmi ve 1'inde (%1,1) -308 A/A polimorfizmi saptandı. -308 G/G polimorfizmi saptanan 70 hastanın 39 kişisini (%55,7) kadınlar, 31 kişisini (%44,3) erkekler, -308 G/A polimorfizmi saptanan 14 hastanın 5 kişisini (%35,7) kadınlar, 9 kişisini (%64,3) erkekler oluşturuyordu. -308 A/A polimorfizmi saptanan 1 hasta ise erkekti. Çalışmaya alınan 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda ise 106 kişinin tamamında TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 106 kişinin 88'inde (%83) -308 G/G polimorfizmi, 16'sında (%15,1) -308 G/A polimorfizmi ve 2'sinde de (%1,9) -308 A/A polimorfizmi saptandı. -308 G/G polimorfizmi saptanan 88 kişinin 48 kişisini (%54,5) kadınlar, 40 kişisini (%44,5) erkekler, -308 G/A polimorfizmi saptanan 16 kişinin 9 kişisini (%56,3) kadınlar, 7 kişisini (%43,8) erkekler, -308 A/A polimorfizmi saptanan 2 kişinin ise tamamını erkekler oluşturuyordu (tablo 4.10 ve şekil 4.15). -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta ve kontrol grubundaki kişilerin sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A polimorfizminde hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A

polimorfizmi taşıyanlar arasında yapılan karşılaştırmada hasta ve kontrol grubu arasında TNF-α-308 gen polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.10. Çalışma gruplarındaki TNF-α-308 gen polimorfizmleri

Genotip	Hasta	Kontrol
-308 G/G	70 (%82,4)	88 (%83)
Kadın	39 (%55,7)	48 (%54,5)
Erkek	31 (%44,3)	40 (%44,5)
-308 G/A	14 (%16,5)	16 (%15,1)
Kadın	5 (%35,7)	9 (%56,3)
Erkek	9 (%64,3)	7 (%43,8)
-308 A/A	1 (%1,1)	2 (%1,9)
Kadın	0 (%0)	0 (%0)
Erkek	1 (%100)	2 (%100)

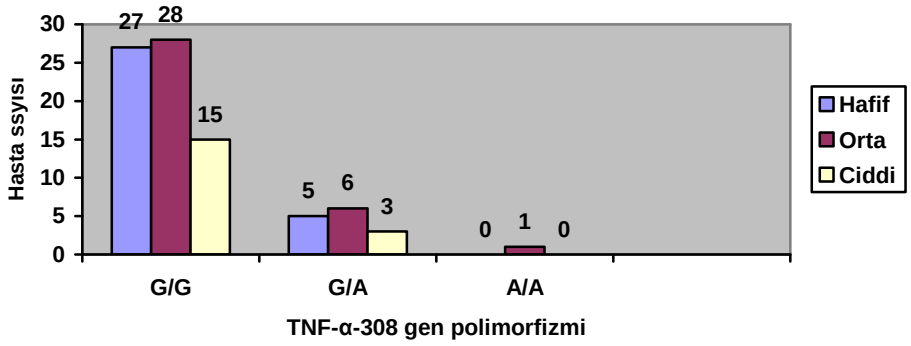


Şekil 4.15. Çalışma gruplarındaki TNF-α-308 gen polimorfizmleri

TNF-α -308 G/G polimorfizmi saptanan 70 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 27 kişide (%38,6) hafif şiddette, 28 kişide (%40) orta şiddette ve 15 kişide (%21,4) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -308 G/A polimorfizmi saptanan 14 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 5 kişide (%35,7) hafif şiddette, 6 kişide (%42,9) orta şiddette ve 3 kişide (%21,4) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi saptanan 1 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda ise ciddi şiddette hastalık saptandı (tablo 4.11 ve şekil 4.16). -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, hastalık şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalık şiddeti ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.11. TNF-α-308 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi

Özellik	Hafif	Orta	Ciddi
-308 G/G	27 (%38,6)	28 (%40)	15 (%21,4)
Kadın	14 (%51,9)	16 (%57,1)	9 (%60)
Erkek	13 (%48,1)	12 (%42,9)	6 (%40)
-308 G/A	5 (%35,7)	6 (%42,9)	3 (%21,4)
Kadın	2 (%40)	2 (%33,3)	1 (%33,3)
Erkek	3 (%60)	4 (%66,7)	2 (%66,7)
-308 A/A	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)
Kadın	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Erkek	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)



Şekil 4.16. TNF-α-308 gen polimorfizmi ile hastalık şiddetinin ilişkisi

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın, TNF-α -308 gen polimorfizmine göre; ailesinde AAA varlığı, ateş, karın ağrısı, artrit, uzamış artralji, plörezi, perikardit, erizipel, amiloidozis varlığı, kolşisine yanıt durumu ve taşıdıkları MEFV gen mutasyonuna bakıldı (tablo 4.12 ve şekil 4.19).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 44'ünde (%51,8) aile hikayesi varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 33 kişide (%47,1), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 11 kişide (%78,6) aile hikayesi vardı.

TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede aile hikayesi yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda aile hikayesi olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, aile hikayesi varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, aile hikayesi varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın tamamında ateş vardı. Hastaların tamamında ateş olduğu için ateş varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 84'ünde (%98,8) karın ağrısı varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 69 kişide (%98,6), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 14 kişide (%100) , TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%100) karın ağrısı vardı. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, karın ağrısı varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, karın ağrısı varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 44'ünde (%51,8) artrit varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 38 kişide (%54,3), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%42,9) artrit vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede artrit yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda artrit olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, artrit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, artrit varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 3'ünde (%3,5) uzamış artralji varken, bu 3 hastanın tamamını TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlar

oluşturuyordu ancak uzamış artralji varlığı olan hasta sayısı az olduğu için, uzamış artralji varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 25'inde (%29,4) plörezi varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 22 kişide (%31.4), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 3 kişide (%21,4) plörezi vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede plörezi yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda plörezi olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, plörezi varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, plörezi varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

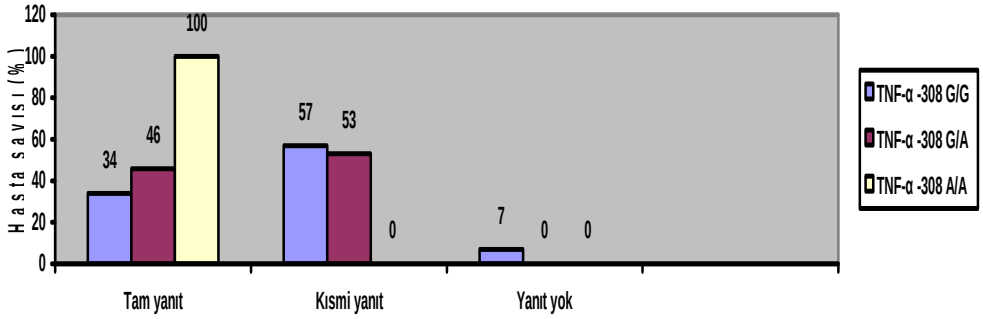
TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 7'sinde (%8,2) perikardit varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%8,6), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%7,1) perikardit vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede perikardit yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda perikardit olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, perikardit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, perikardit varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 9'unda (%10,6) erizipel varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%8,6), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 2 kişide (%14,3), TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%100) erizipel vardı. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, erizipel varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, erizipel varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 18'inde (%21,2) amiloidozis varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 12 kişide (%17,1), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%42,9) amiloidozis vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede amiloidozis yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda amiloidozis olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, amiloidozis varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, amiloidozis varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

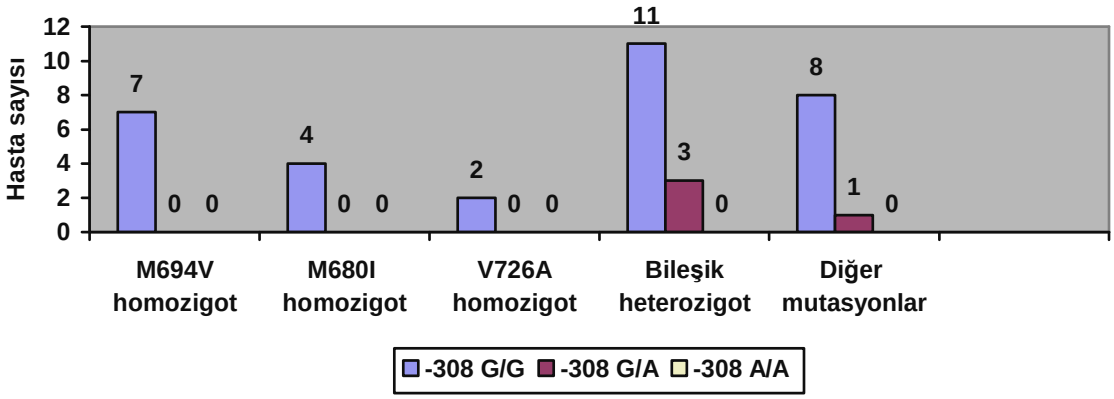
TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 78'i (%91,7) kolşisin kullanıyordu. Kolşisin kullanan 78 hastanın 29'unda (%37,2) tam yanıt, 44'ünde (%56,4) kısmi yanıt varken 5 hastada (%6,4) yanıt yoktu.

TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 22 kişide (%34,4), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%46,2), TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%100) tam yanıt vardı. TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 37 kişide (%57,8), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 7 kişide (%53,8) kısmi yanıt vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede kısmi yanıt yoktu. TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 5 kişide (%7,8) kolşisine yanıtsızlık varken TNF-α -308 G/A ve TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede kolşisine yanıtsızlık yoktu. Kolşisine yanıtsız hasta sayısı az olduğu için, kolşine yanıt durumu ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi (şekil 4.17).



Şekil 4.17. TNF-α -308 gen polimorfizmi ile kolşisin yanıtı arasındaki ilişki

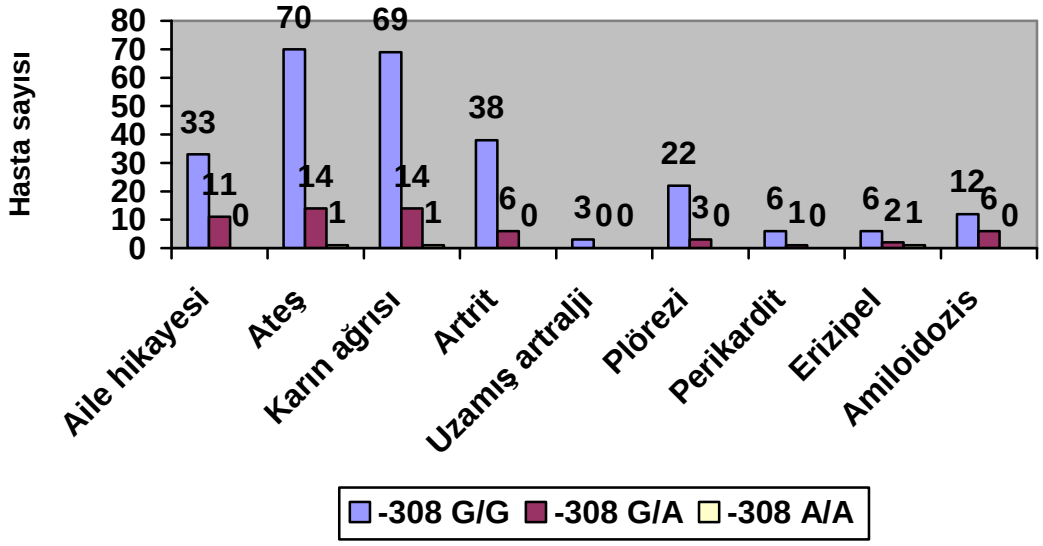
TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 36'sında (%46) MEFV gen mutasyonu çalışılmıştı. MEFV gen mutasyonu çalışılmış 36 hastadan 7 kişide (%19,4) M694V homozigot, 4 kişide (%11,1) M680I homozigot, 2 kişide (%5,6) V726A homozigot, 14 kişide (%38,9) bileşik heterozigot ve 9 kişide (%25) diğer mutasyonlar saptandı (şekil 4.18). MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için MEFV gen mutasyonu farklılıkları ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.



Şekil 4.18. MEFV gen mutasyonu ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

Tablo 4.12. TNF-α -308 gen polimorfizmi ile hastalık özelliklerinin ilişkisi

Özellik	Hasta	-308 G/G	-308 G/A	-308 A/A
Ailesinde AAA varlığı	44 (%51,8)	33 (%47,1)	11 (%78,6)	0 (%0)
Ateş varlığı	85 (%100)	70 (%100)	14 (%100)	1 (%100)
Karın ağrısı varlığı	84 (%98,8)	69 (%98,6)	14 (%100)	1 (%100)
Artrit varlığı	44 (%51,8)	38 (%54,3)	6 (%42,9)	0 (%0)
Uzamış artralji varlığı	3 (%3,5)	3 (%4,3)	0 (%0)	0 (%0)
Plörezi varlığı	25 (%29,4)	22 (%31,4)	3 (%21,4)	0 (%0)
Perikardit varlığı	7 (%8,2)	6 (%8,6)	1 (%7,1)	0 (%0)
Erizipel varlığı	9 (%10,6)	6 (%8,6)	2 (%14,3)	1 (%100)
Amiloidozis varlığı	18 (%21,2)	12 (%17,1)	6 (%42,9)	0 (%0)
Kolşisine yanıt Tam yanıt Kısmi yanıt Yanıt yok	 29 (%37,2) 44 (%56,4) 5 (%6,4)	 22 (%34,4) 37 (%57,8) 5 (%7,8)	 6 (%42,6) 7 (%53,8) 0 (%0)	 1 (%100) 0 (%0) 0 (%0)
MEFV gen mutasyonu M694V homozigot M680I homozigot V726A homozigot Bileşik heterozigot Diğer mutasyonlar	 7 (%19,4) 4 (%11,1) 2 (%5,6) 14 (%38,9) 9 (%25)	 7 (%21,9) 4 (%12,5) 2 (%6,3) 11 (%34,4) 8 (%25)	 0 (%0) 0 (%0) 0 (%0) 3 (%75) 1 (%25)	 0 (%0) 0 (%0) 0 (%0) 0 (%0) 0 (%100)

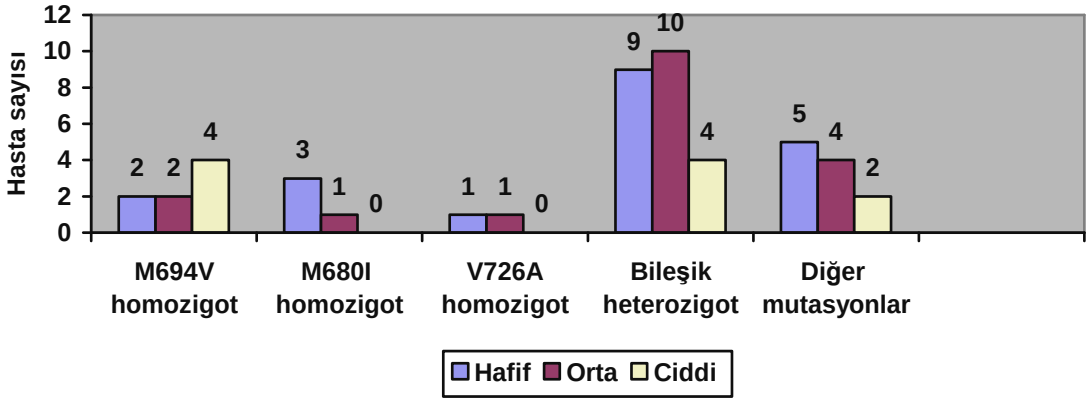


Şekil 4.19. AAA'lı hastalarda klinik bulguların varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

MEFV gen mutasyonu çalışılmış 48 hastanın MEFV gen mutasyonları ile hastalık şiddeti karşılaştırıldığında, M694V homozigot mutasyon taşıyan 8 hastadan (%16,7) 2 kişi (%25) hafif şiddette, 2 kişi (%25) orta şiddette, 4 kişi ise (%50) ciddi şiddette hastalığa sahipti. M680I homozigot mutasyon taşıyan 4 hastadan (%8,3) 3 kişi (%75) hafif şiddette, 1 kişi ise (%25) orta şiddette hastalığa sahipti. V726A homozigot mutasyon taşıyan 2 hastadan (%4,2) 1 kişi (%50) hafif şiddette, 1 kişi ise (%50) orta şiddette hastalığa sahipti. Bileşik heterozigot mutasyon taşıyan 23 hastadan (%47,9) 9 kişi (%39,1) hafif şiddette, 10 kişi (%43,5) orta şiddette, 4 kişi ise (%17,4) ciddi şiddette hastalığa sahipti. Diğer mutasyonları taşıyan 11hastadan (%22,9) 5 kişi (%45,5) hafif şiddette, 4 kişi (%17,4) orta şiddette, 2 kişi ise (%18,2) ciddi şiddette hastalığa sahipti (tablo 4.13 ve şekil 4.20). MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için, MEFV gen mutasyonu ile hastalık şiddeti arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

Tablo 4.13. Hastalık şiddeti ile MEFV gen mutasyonları arasındaki ilişki

	Toplam	Hafif	Orta	Ciddi
M694V homozigot	8 (%16,7)	2 (%25)	2 (%25)	4 (%50)
M680I homozigot	4 (%8,3)	3 (%75)	1 (%25)	0 (%0)
V726A homozigot	2 (%4,2)	1 (%50)	1 (%50)	0 (%0)
Bileşik heterozigot	23 (%47,9)	9 (%39,1)	10 (%43,5)	4 (%17,4)
Diğer mutasyonlar	11 (%22,9)	5 (%45,5)	4 (%17,4)	2 (%18,2)



Şekil 4.20 Hastalık şiddeti ile MEFV gen mutasyonu arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA); Akdeniz çevresinde yaşayan toplumlarda sık görülen, tekrarlayan ve kendi kendini sınırlayan ateş ile birlikte karın ağrısı, plörit, artrit, erizipel benzeri deri lezyonları ve zamanla amiloidozis gelişimi ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (1,2,3).

Hastalık özellikle Doğu Akdeniz havzasında yaşayan halklarda artmış sıklıkta görülmektedir. Ailesel Akdeniz ateşi en sık Sefardik Yahudiler'de, Ermeniler'de, Araplar'da ve Türkler'de ortaya çıkar. Ülkemizde hastalık Akdeniz kıyılarında yaşayanlardan çok, kökleri Ankara, Tokat, Sivas, Kayseri gibi İç Anadolu'ya, Kastamonu, Sinop gibi Batı Karadeniz'e, Gümüşhane, Giresun, Bayburt gibi Doğu Karadeniz'e, Erzincan, Erzurum, Malatya, Kars ve Ağrı gibi Doğu Anadolu'ya dayanan bireylerde daha sık olarak görülmektedir (19).

AAA'da hastalar arasında farklı klinik özelliklerin olması ve hastalığın değişik şiddette seyretmesi, AAA geninin klonlanması ve birçok mutasyonun saptanması ile fenotip-genotip korelasyonu kurulmasına yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur. Bugüne dek MEFV geninde 75'den fazla mutasyon tanımlanmış ve M694V, M680I, V726A, E148Q en sık görülen mutasyonlar olarak belirlenmiştir (19).

Bizim çalışmamıza katılan 106 hastadan 48'inde (%45,2) MEFV gen mutasyonu çalışılmıştı. MEFV gen mutasyonu çalışılmış 48 hastadan 8'inde (%16,7) M694V homozigot, 4'ünde (%8,3) M680I homozigot, 2'sinde (%4,2) V726A homozigot, 23'ünde (%47,9) bileşik heterozigot (M680I/V726A, M694V/M680I, M694V/V726A, M694V/E148Q, M694V/R202Q) ve 11 kişide (%22,9) diğer mutasyonlar (M694V heterozigot, M680I heterozigot, V726A heterozigot, E128Q heterozigot ve R202Q homozigot) saptandı.

Çalışmamızda MEFV gen mutasyonu bakılmış 48 hastanın MEFV gen mutasyonları ile hastalık şiddeti karşılaştırıldığında, MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için, MEFV gen mutasyonu ile hastalık şiddeti arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

AAA'nın patogenezi ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur. AAA'nın tam aydınlatılamayan patogenezinde sitokin yapımında değişikliklerin de rol aldığını

düşündüren veriler vardır. Tümör nekroz faktör alfa (TNF-α); infeksiyon, doku hasarlanması ve inflamasyonun ilk aracısıdır. Nötrofilleri aktive eder ve onların yapışma, birikme aktivitelerini etkiler. Endotel hücrelerine lökositlerin yapışmasını ve geçirgenliği artırır (25). TNF-α, birçok akut faz proteini için güçlü uyarıcı etkiye sahiptir. Bu nedenle AAA'daki inflamasyonda ve ortaya çıkan klinik bulgularda TNF-α'nın etkisi çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Schattner ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, AAA hastalarında atak döneminde TNF-α düzeyini yüksek bulmuştur. Serum TNF düzeyindeki yükselme lökosit sayısı, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı ve fibrinojen gibi diğer akut faz reaktanları ile beklendiği üzere pozitif korelasyon göstermiştir. Bu çalışmada ;AAA hastalarının atak dönemlerinde serumda yüksek bulunan TNF-α düzeylerinin klinik ve laboratuvar bulgularının birçoğundan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (26). Ancak TNF-α'nın AAA'daki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Yapılan çalışmalarda AAA'nın esas olarak çocukluk çağı hastalığı olduğu ve hastaların %90'ında şikayetlerin 20 yaşından önce başladığı saptanmıştır (1,30). Bizim çalışmamızda, çalışmaya alınan 106 hasta hastalığın başlangıç yaşına göre 5 gruba ayrıldılar. 16 kişi (%15,1) 6 yaş altında, 24 kişi (%22,6) 6-10 yaş arası, 44 kişi (%41,6) 11-20 yaş arası, 17 kişi (%16) 21-31 yaş arası ve 5 kişi de (%4,7) 31 yaş üstünde saptandı.

Daha önce yapılan çalışmalarda ateşin hemen hemen tüm hastalarda olduğu, karın ağrısı ataklarının %90 oranında, artrit ataklarının %40-70 oranında, plörit ataklarının %25-80 oranında ve erizipel benzeri eritemin %3-45 oranında olduğu saptanmıştır (1,3,27,33,36). Bizim çalışmamızda ise çalışmaya alınan 106 hastada, ateş %100, karın ağrısı atakları %98,1, artrit atakları %49,1, plörit atakları %26,4 ve erizipel benzeri eritem %11,3 oranında saptandı.

AAA'lı hastalarda görülen renal tutulumun en iyi bilinen şekli amiloidozisdir. Amiloid birikimi AA tipinde sekonder amiloidozistir. İnsidans Yahudiler'de %37.2, Ermeniler'de %8, Araplar'da %2 olarak yayınlanmıştır (16,39,40,41). Kolşisin tedavisinin uygulanmadığı dönemlerde Özdemir ve arkadaşları yaptığı çalışmada, erişkin hasta serilerinde amiloidozis insidansını %60 olarak bildirmişlerdir (79). Daha sonra Yalçınkaya ve arkadaşlarının hasta grubunda amiloidozis insidansı %29, Yazıcı ve arkadaşlarının gruplarında ise %7 olarak belirtilmiştir (43,44).

Bizim çalışmamızda ise çalışmaya alınanan 106 hastanın % 22,6'sında amiloidozis saptandı.

Bakkaloğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kolşisin kullanan hastaların %65'inde tam yanıt ve %30'unda kısmi yanıt elde edilirken hastaların %5'inde kolşisine yanıt alınamamıştır (27). Bizim çalışmamızda ise çalışmaya alınan 106 hastanın 99'u (%93,3) kolşisin kulanmaktaydı. Bu 99 hastanın %36,4'ünde tam yanıt ve %58,8'sında kısmi yanıt elde edilirken %5,1'inde kolşisine yanıt alınamamıştır.

Çalışmamızda, çalışmaya alınan 106 hastanın hastalık şiddeti, AAA'nın başlangıç yaşı, aylık atak sayısı, artrit varlığı, erizipel varlığı, amiloidozis varlığı, ve kolşisin kullanım dozu dikkate alınarak Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık şiddeti skorlamasına göre sınıflandırıldı (46,48). Çalışmaya katılan 106 hastadan 39 kişide (%36,8) hafif şiddette, 44 kişide (%41,5) orta şiddette, 23 kişide (%21,7) ise ciddi şiddette hastalık saptandı. Hafif şiddette hastalığı olan 36 hastanın 21 kişisini (%53,8) kadınlar, 18 kişisini (%46,2) erkekler, orta şiddette hastalığı olan 44 hastanın 24 kişisini (%54,5) kadınlar, 20 kişisini (%45,5) erkekler, ciddi şiddette hastalığı olan 23 hastanın ise 11 kişisini (%47,8) kadınlar, 12 kişisini (%52,2) erkekler oluşturuyordu. Hastalık şiddeti açısından, istatistiksel olarak kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$).

Kobak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 41 AAA'lı hastada TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalığın gelişimine eğilim arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalığın gelişimine eğilim sıklığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ancak bu ilişkinin hakkında kesin karar verebilmek için daha fazla ve geniş serilerde çalışmaya gerek olduğu belirtilmiştir (80).

Bizim çalışmamızda, çalışmaya alınan 106 hastanın 100'ünde TNF-α-238 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 100 hastanın 64'ünde (%64) -238 G/G polimorfizmi, 33'ünde (%33) -238 G/A polimorfizmi ve 3'ünde (%3) -238 A/A polimorfizmi saptandı. Çalışmaya alınan 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda ise 106 kişinin tamamında TNF-α-238 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 106 kişinin 100'ünde (%94,3) -238 G/G polimorfizmi ve 6'sında (%5,7) -238 G/A polimorfizmi saptanırken hiç kimsede -238 A/A polimorfizmi saptanmadı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması ve kontrol grubunda hiç kimsede -238 A/A

polimorfizmi olmadığı için, -238 A/A polimorfizminin hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterip göstermediği değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalarda kontrol grubuna göre, istatistiksel açıdan anlamlı olarak -238 G/A polimorfizmi daha fazla saptandı ($p<0,001$). %95 güven aralığında Odds Ratio 8,6 (3,4 - 21,7) olarak hesaplandı. **Yani TNF-α -238 G/A polimorfizmine sahip olmanın TNF-α -238 G/G polimorfizmine sahip olmaya göre hastalık gelişme riskini 8.6 kat (3,4-21,7) artırdığı saptandı. Ayrıca -238 G/A polimorfizminin hastalığı saptamadaki sensitivitesi %34, spesifitesi ise %94 olarak saptandı.**

Daha önce hiçbir çalışmada TNF-α -238 gen polimorfizmi ile hastalık şiddeti arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilmemişti. Bizim çalışmamızda TNF-α -238 G/G polimorfizmi saptanan 64 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 24 kişide (%37,5) hafif şiddette, 31 kişide (%48,4) orta şiddette ve 9 kişide (%14,1) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -238 G/A polimorfizmi saptanan 33 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 10 kişide (%30,3) hafif şiddette, 12 kişide (%36,4) orta şiddette ve 11 kişide (%33,3) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -238 A/A polimorfizmi saptanan 3 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 2 kişide (%66,7) hafif şiddette, 1 kişide ise (%33,3) ciddi şiddette hastalık saptandı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, hastalık şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalık şiddeti ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın, TNF-α -238 gen polimorfizmine göre; ailesinde AAA varlığı, ateş varlığı, karın ağrısı varlığı, artrit varlığı, uzamış artralji varlığı, plörezi varlığı, perikardit varlığı, erizipel varlığı, amiloidozis varlığı ve taşıdıkları MEFV gen mutasyonuna bakıldı . Aile hikayesi varlığı, karın ağrısı varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı, erizipel varlığı ve amiloidozis varlığı olan hastalar arasında -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve

-238 G/A polimorfizmi arasında, aile hikayesi varlığı, karın ağrısı varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı, erizipel varlığı ve amiloidozis varlığı varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, aile hikayesi varlığı, karın ağrısı varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı, erizipel varlığı ve amiloidozis varlığı varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Perikardit varlığı olan hastalar arasında -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta olmaması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, perikardit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, perikardit varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Uzamış artralji varlığı olan hasta sayısı ve MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için ve de hastaların tamamında ateş olduğu için, uzamış artralji varlığı, MEFV gen mutasyonu farklılıkları ve ateş ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

Kobak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 41 AAA'lı hastada TNF-α -308 gen polimorfizmi ile hastalığın gelişimine eğilim arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında TNF-α -308 gen polimorfizmi ile hastalığın gelişimine eğilim sıklığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ancak bu ilişkinin hakkında kesin karar verebilmek için daha fazla ve geniş serilerde çalışmaya gerek olduğu belirtilmiştir (80).

Bizim çalışmamızda çalışmaya alınan 106 hastanın 85'inde TNF-α-308 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 85 hastanın 70'inde (%82,4) -308 G/G polimorfizmi, 14'ünde (%16,5) -308 G/A polimorfizmi ve 1'inde (%1,1) -308 A/A polimorfizmi saptandı. Çalışmaya alınan 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda ise 106 kişinin tamamında TNF-α-308 gen polimorfizmi çalışıldı. Bu 106 kişinin 88'inde (%83) -308 G/G polimorfizmi, 16'sında (%15,1) -308 G/A polimorfizmi ve 2'sinde de (%1,9) -308 A/A polimorfizmi saptandı. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta ve kontrol grubundaki kişilerin sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A

polimorfizminde hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi taşıyanlar arasında yapılan karşılaştırmada hasta ve kontrol grubu arasında TNF-α-308 gen polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Daha önce hiçbir çalışmada TNF-α -308 gen polimorfizmi ile hastalık şiddeti arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilmemişti. Bizim çalışmamızda TNF-α -308 G/G polimorfizmi saptanan 70 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 27 kişide (%38,6) hafif şiddette, 28 kişide (%40) orta şiddette ve 15 kişide (%21,4) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -308 G/A polimorfizmi saptanan 14 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda, 5 kişide (%35,7) hafif şiddette, 6 kişide (%42,9) orta şiddette ve 3 kişide (%21,4) ciddi şiddette hastalık saptandı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi saptanan 1 hastanın hastalık şiddetine baktığımızda ise ciddi şiddette hastalık saptandı. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, hastalık şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, hastalık şiddeti ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın, TNF-α -308 gen polimorfizmine göre; ailesinde AAA varlığı, ateş varlığı, karın ağrısı varlığı, artrit varlığı, uzamış artralji varlığı, plörezi varlığı, perikardit varlığı, erizipel varlığı, amiloidozis varlığı, ve taşıdıkları MEFV gen mutasyonuna bakıldı.

Karın ağrısı varlığı ve erizipel varlığı olan hastalar arasında -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, karın ağrısı ve erizipel varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, karın ağrısı ve erizipel varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Aile hikayesi varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı ve perikardit varlığı olan hastalar arasında -308 A/A polimorfizmi taşıyan hasta olmaması nedeni ile, -308

A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, aile hikayesi varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı ve perikardit varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, ile aile hikayesi varlığı, artrit varlığı, plörezi varlığı ve perikardit varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Uzamış artralji varlığı olan hasta sayısı ve MEFV gen mutasyonu çalışılmış hasta sayısı az olduğu için ve de hastaların tamamında ateş olduğu için, uzamış artralji varlığı, MEFV gen mutasyonu farklılıkları ve ateş ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi.

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AAA'lı hastalarda amiloidozis gelişiminde SAA1, SAA2 ve TNF-α -308 gen polimofizminin rolü incelenmiş ve amiloidozis gelişmiş AAA'lı hastalarda TNF-α -308 ve SAA2 gen polimorfizmlerinde amiloidozis gelişmemiş AAA'lı hastalar ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık saptanmazken, SAA1 lokusundaki alfa/alfa polimorfizminin sıklığında belirgin yükseklik saptanmış ve SAA1 lokusundaki alfa/alfa gen polimorfizminin amiloidozis gelişiminde önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür (78).

Akar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise amiloidozis gelişmiş ve gelişmemiş AAA'lı hastalarla, sağlıklı kontrol grubu arasında TNF-α -308 G/A polimorfizmine bakılmış ancak amiloidozis varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında hasta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (79).

Bizim çalışmamızda TNF-α -308 gen polimorfizmi çalışılmış 85 hastanın 18'inde (%21,2) amiloidozis varken, TNF-α -308 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 12 kişide (%17,1), TNF-α -308 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 6 kişide (%42,9) amiloidozis vardı. TNF-α -308 A/A polimorfizmi taşıyanlardan hiç kimsede amiloidozis yoktu. -308 A/A polimorfizmi taşıyan hastalarda amiloidozis olmaması nedeni ile, -308 A/A polimorfizmi ile -308 G/G polimorfizmi ve -308 G/A polimorfizmi arasında, amiloidozis varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -308 G/G polimorfizmi ve -308

G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, amiloidozis varlığı ile TNF-α -308 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Daha önce hiçbir çalışmada TNF-α -238 gen polimorfizmi ile amiloidozis varlığı arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilmemişti. Bizim çalışmamızda TNF-α -238 gen polimorfizmi ile amiloidozis varlığı arasında ilişki olup olmadığına da bakıldı ve TNF-α -238 gen polimorfizmi çalışılmış 100 hastanın 23'ünde (%23) amiloidozis varken, TNF-α -238 G/G polimorfizmi taşıyanlardan 14 kişide (%21,9), TNF-α -238 G/A polimorfizmi taşıyanlardan 8 kişide (%24,2) ve TNF-α -238 A/A polimorfizmi taşıyanlardan 1 kişide (%33,3) amiloidozis vardı. -238 A/A polimorfizmi taşıyan hasta sayısının az olması nedeni ile, -238 A/A polimorfizmi ile -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında, amiloidozis varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilemedi ancak -238 G/G polimorfizmi ve -238 G/A polimorfizmi arasında yapılan karşılaştırmada, amiloidozis varlığı ile TNF-α -238 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

6. SONUÇ

Çalışmamızda AAA'da TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizminin hastalığın ortaya çıkışı ve klinik seyri üzerine etkisini araştırdık. Çalışmanın sonucunda, TNF-α -238 G/A polimorfizminin AAA hastalarında, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla olduğunu ($p<0,001$) ve bu polimorfizme sahip olmanın TNF-α -238 G/G polimorfizmine sahip olmaya göre hastalık gelişme riskini 8.6 kat (3,4-21,7) artırdığını ve TNF-α -238 G/A polimorfizminin hastalığı saptamadaki sensitivitesinin %34, spesifitesinin ise %94 olduğunu saptadık. Ayrıca TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizminin, AAA hastalığının şiddeti, klinik özellikleri ve amiloidozis gelişimi ile istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermediğini saptadık ($p>0,05$).

7. ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığında Tümör Nekrozis Faktör-Alfa Gen Polimorfizminin Hastalığın Ortaya Çıkışı ve Klinik Seyri Üzerine Olan Etkisi

TNF-α'nın AAA'daki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. TNF-α'nın proinflamatuar bir sitokin olup AAA ve sekonder amiloidozis gelişiminde majör bir rol aldığına inanılmaktadır. TNF-α geninin promoter bölgesindeki polimorfizmlerin, genelde TNF-α sentezini etkileyerek hastalıklara eğilim yarattığı düşünülmekle beraber, bu konu halen netlik kazanmamıştır. Biz bu çalışmada AAA'da TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizminin hastalığın ortaya çıkışına ve seyrine olan etkisini araştırdık.

Çalışmaya 106 AAA hastası ve 106 sağlıklı kontrol grubu alındı ve hastaların hastalık şiddeti Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık şiddeti skorlamasına göre saptandı. Hasta ve kontrol grubunda pıhtılaşması engellenmiş periferik venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonundan sonra, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan DNA'larda, kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi yöntemleri kullanılarak polimorfizmler incelendi. TNF-α geninin promoter bölgesinde tanımlanan guanin-adenin değişiminin olduğu -308 ve -238 nükleotidlerindeki polimorfizmleri içine alan bölge TNF-α gen bölgesine özgül primerler kullanılarak PCR tekniği ile amplifiye edildi.

Çalışmanın sonucunda, TNF-α -238 G/A polimorfizminin AAA hastalarında, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha fazla olduğunu ($p<0,001$) ve bu polimorfizme sahip olmanın TNF-α -238 G/G polimorfizmine sahip olmaya göre hastalık gelişme riskini 8.6 kat (3,4-21,7) artırdığını ve de TNF-α -238 G/A polimorfizminin hastalığı saptamadaki sensitivitesinin %34, spesifitesinin ise %94 olduğunu saptadık. Ayrıca TNF-α -238 ve TNF-α -308 gen polimorfizminin, AAA hastalığının şiddeti, klinik özellikleri ve amiloidozis gelişimi ile istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermediğini saptadık ($p>0,05$).

Anahtar Sözcükler: Ailevi Akdeniz Ateşi, tümör nekrozis faktör alfa, gen polimorfizmi

8. SUMMARY

Effect of Tumor Necrosis Factor-Alfa Gene Polymorphisms on Occuring and Clinic Course of Familial Mediterranean Fever

The role of TNF-α at the patogenesis of FMF has not been completely explained yet. It has been believed that TNF-α was a proinflamatuar cytokine and had major role at the development of secondary amiloidosis. It was thought that polymorphisms of the promoter region of TNF-α gene because of effects the synthesys of the TNF-α and produce tendency to illness but these issue still not completely explained. We investigated the role of the functionally important TNF-α 238 and TNF-α-308 gene polymorphisms at the occuring and clinic course of FMF.

106 FMF patients and 106 healthy controls were studied, severity of their illness was scored with ilness score system which was developed by Pras and his collegues. We make DNA isolations of uncoagulated periferic venous blood samples of patients and control group. After DNA isolation, fragments were amplified with polymerase chain reaction (PCR). These amplified fragments were studied for polymorphisms with length polymorphism techiniques. The region which had guanin-adenin exchange and -308 and -238 nucleotide polymorphism was defined at the promoter region of TNF-α , was amplified with specific primers with PCR techinique.

As conclusion, FMF patients had statisticaly significant more TNF-α -238 G/A polymorphism than control group ($p<0,001$). We determined that people who had TNF-α -238 G/A polymorphism 8.6 (3,4 – 21,7) times more risk for development of illness than patients who had TNF-α -238 G/G polymorphism and the effect of TNF-α -238 G/A polymorphism on determination of disease has sensivity %34, specifity %94. In addition to these, we determined that TNF-α -238 and TNF-α-308 gene polymorphism was not statistically significant with clinical features and severity of FMF and development of secondary amiloidosis ($p> 0,05$).

Key Words: Familial Mediterranean Fever, tumor necrosis factor alfa, gene polymorphism

9. KAYNAKLAR

1. Onen F. Familial Mediterranean Fever. Rheumatol Int. 2006 Apr;26(6):489-96

2. 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. 2000;39:67-72

3. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean Fever. Lancet. 1998 28;351: 659-664

4. Örün E, Yalçınkaya F, Özkaya N, Akar N, Gökçe H. Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığında akut faz yanıtı ile tümör nekrozis faktör-α, interlökin-8 ve interlökin-6 düzeylerinin değerlendirilmesi AÜTF Mecmuası cilt 55, sayı 2, 2002 123-128

5. Schattner A, Lachmi M, Livneh A, Pras M, Hahn T. Tumour necrosis factor in Familial Mediterranean Fever. Am J Med. 1991 Apr;90(4):434-8.

6. Ozgocmen S, Ozcakar L, Ardicoglu O, Kocakoc E, Kaya A, Kiris A. Familial Mediterranean Fever responds well to infliximab: single case experience. Clin Rheumatol. 2006 Feb;25(1):83-7. Epub 2005 Sep 20.

7. Baykal Y, Saglam K, Yilmaz MI, Taslipinar A, Akinci SB, Inal A Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF-alpha level in Familial Mediterranean Fever patients. Clin Rheumatol. 2003 May;22(2):99-101

8. Schattner A, Gurevitz A, Zemer D, Hahn T. Induced TNF production in vitro as a test for Familial Mediterranean Fever. QJM. 1996 Mar;89(3):205-10

9. Balkwill FR.Tumour necrosis factor. Br Med Bull 45:389-400, 1989

10. Beutler B. TNF, immunity and inflamatory disease:lessons of the past decade. J Invest Med 43:227-235, 1995

11. Mugnier B, Balandraud N, Darque A, Roudier C, Roudier J, Reviron D. Polymorphism at position -308 of the tumour necrosis factor alpha gene influences outcome of İnfliximab therapy in rheumatoid arthritis Arthritis Rheum. 2003 Jul;48(7):1849-52.

12. Mor A, Pillinger MH, Kishimoto M, Abeles AM, Livneh A. Familial Mediterranean Fever successfully treated with Etanercept J Clin Rheumatol. 2007 Feb;13(1):38-40.

13. Metyas S, Arkfeld DG, Forrester DM, Ehresmann GR. Infliximab Treatment of Familial Mediterranean Fever and Its Effect on Secondary AA Amyloidosis. J Clin Rheumatol. 2004 Jun;10(3):134-137

14. Pociot F, D' Alfonso S, Compasso S, Scorza R, Richiardi PM. Functional analysis of a new polymorphism in the human TNF alpha gene promoter. Scand J Immunol 42: 501-504, 1995.

15. Uglialoro AM, Turbay D, Pesavento PA, Delgado JC, McKenzie FE, Gribben JG, Hartl D, Yunis EJ, Goldfeld AE. Identification of three new single nucleotide polymorphisms in the human tumour necrosis factor-α gene promoter. Tissue Antigens 52: 359-367, 1998.

16. 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 2003;12

17. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. Ann Intern Med 1945;23:1-21.

18. Heller H, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean Fever. Arch Int Med 1958; 102:50

19. Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, Tutar E, Ozen S, Topaloglu R, Yilmaz E, Arici M, Bakkaloglu A, Besbas N, Akpolat T, Dinc A, Erken E; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in

Turkey: results of a nationwide multicenter study. Medicine (Baltimore). 2005 Jan;84(1):1-11

20. Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H (1967) Familial Mediterranean Fever. A survey of 470 cases and review of the literature. Am J Med 43:227–253

21. Hayashi A, Suzuki T, Shimizi A, Yammamara Y. Periodic fever suppressed by reserpine. Lancet 1976;1 :592-9.

22. Barakat MH, EI-Khawad AA, Gumaa KA, El-Sobki NI, Feneeh FF. Metaraminol provocative test: A specifie diagnostic test for Familial Mediterranean Fever. Lancet 1984;24:656-62.

23. Matzner Y, Brzezinski A. C5a-inhibitor deficiency in peritoneal fluid from patients with Familial Mediterranean Fever. N Engl J Med 1984;311:287-90.

24. Shohat M, Korenberg JR, Schwabe AD, Rottern. Hypothesis: Familial Mediterranean Fever-a genetic disorder of the lipocortin family? Am J Med genet 1989;34:163-7.

25. Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM. Tumour necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1 J Exp Med 1986;163:1433-50

26. Schattner A, Lachmi M, Livneh A. Tumour necrosis factor in Familial Mediterranean Fever. Am J Med 1991 ;90:434-8.

27. Bakkaloglu A. Familial Mediterranean Fever. Pediatr Nephrol. 2003 Sep;18(9):853-9

28. 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 Mutat. 2000 Jan;15(1):118-9.

29. Kinikli G, Bektaş M, Misirlioğlu M, Ateş A, Turgay M, Tuncer S, Kinikli S, Tokgöz G. Relationship between HLA-DR, HLA-DQ alleles and MEFV gene mutations in Familial Mediterranean Fever patients. Turk J Gastroenterol. 2005 Sep;16(3):143-6

30. Ben-Chetrit E. Familial Mediterranean Fever (FMF) and renal AA amyloidosis-phenotype-genotype correlation, treatment and prognosis. J Nephrol. 2003 May-Jun; 16(3):431-4.

31. 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 2000;57:430-437

32. Koşan C, Ailevi Akdeniz Ateşine Tanısal Yaklaşım AÜTD 2003; 35: 1-6

33. Livneh A, Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in Familial Mediterranean Fever. Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol. 2000;14:477-498

34. Stojanov S, McDermott MF. The tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: current concepts. Expert Rev Mol Med. 2005 Oct 10;7(22):1-18.

35. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, Migdal A, Padeh S, Pras M. Criteria for the diagnosis of Familial Mediterranean Fever. Arthritis Rheum. 1997;40:1879-1885

36. Yalçınkaya F, Özkaya N, Turner N, et al. Protracted arthritis of Familial Mediterranean Fever (an unusual complication). Br J Rheumatol 1997;36:1228-30

37. Eshel G, Zemer D, Bar-Yochai A. Acute orchitis in Familial Mediterranean Fever. Ann Intern Med. 1988;109:164-165

38. Özdoğan H, Arısoy N, Kasapçopur O et al. Vasculitis in Familial Mediteranean Fever. J Rheumatol 1997;24:323-7

39. Majeed HA, Barakat M. Familial Mediterranean Fever in children : analysis of 88 cases. Eur J Pediatr. 1989; 148:636-641.

40. Pras M, Gafhi J, Jacop ET et al. Recent advances in Familial Mediterranean Fever . Adv Nephrol 1984;13:261-271.

41. Armenian HK, Khachadurian AK. Familial paroxysmal polyserositis. Clinical and laboratory findings in 120 cases. Leb Med J 1973;26:605-614

42. Özdemir AL, Sökmen C, Familial Mediterranean Fever among the Turkish people. Am J Gastroenterol 1969;51:311-6.

43. Yalcinkaya F, Tekin M, Cakar N, Akar E, Akar N. Familial Mediterranean Fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients.QJM. 2000 Oct;93(10):681-4

44. Yazıcı H, Özdoğan H. Familial Mediterranean Fever in Turkey. In: Sohar E. Gafhi J, Pras M eds Proceedings of the 1st international Conference on FMF Jeruselam 1997 Tel Aviv Freund pp:66-71

45. Saatçi Ü, Özen S, Özdemir S, et all. Familial Mediterranean Fever in children: Report of a large series and discussion of the risk and prognostic factors of amiloidosis. Eur J Pediatr 1997;156:619-623

46. Pras E, Livneh A, Balow JE Jr, Pras E, Kastner DL, Pras M, Langevitz P. Clinical differences between North African and Iraqi Jews with Familial Mediterranean Fever. Am J Med Genet. 1998 Jan 13;75(2):216-9

47. Pras M, Sohar E. Familial Mediterranean Fever. In, Rheumatology. Edited by JH Klippel, PA Dieppe. St. Louis, Mosby, 1994

48. Mor A, Shinar Y, Zaks N, Langevitz P, Chetrit A, Shtrasburg S, Rabinovitz E, Livneh A. Evaluation of disease severity in Familial Mediterranean Fever. Semin Arthritis Rheum. 2005 Aug;35(1):57-64.

49. Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yazici H. Acute phase response in Familial Mediterranean Fever. Ann Rheum Dis. 2002 Jan;61(1):79-81

50. Grateau G. Clinical and genetic aspects of the hereditary periodic fever syndromes. Rheumatology (Oxford). 2004 Apr;43(4):410-5. Epub 2004 Feb 24

51. Dinc A, Erdem H, Rowczenio D, Simsek I, Pay S, Bahce M, Lachmann H. Autosomal dominant periodic fever with AA amyloidosis: tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) in a Turkish family. J Nephrol. 2005 Sep-Oct;18(5):626-9.

52. Padeh S, Brezniak N, Zemer D, Pras E, Livneh A, Langevitz P, Migdal A, Pras M, Passwell JH. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome: clinical characteristics and outcome. J Pediatr. 1999;135:98-101

53. Livneh A, Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in Familial Mediterranean Fever. Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol. 2000;14:477-498

54. Özkan E, Okur Ö, Ekmekçi A, et al. A new approch to the treatment of periodic fever. Med Bull Istanbul 1972;5:44-49.

55. Goldfinger SE. Colchicine for Familial Mediterranean Fever. N Engl J Med 1972; 287: 1302.

56. Sariban E, Imamura K, Luebbers R, Kufe D. Transcriptional and posttranscriptional regulation of tumour necrosis factor gene expression in human monocytes. J CIin Invest 81:1506-1510,1988

57. Goldfeld AE, Doyle C. Human tumour necrosis factor α gene regulation by virus and lipopolysaccharide. Proc Natl Acad Sci 87: 9769-9773, 1990.

58. Pociot F, Briant L, Jongeneel CV, Molvig J, Worsaae H, Abbal M, Thomsen M, Nerup J, Cambon- Thomsen A. Association of tumour necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF α and TNF-β by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. Eur J Immunol :23: 224-231, 1993.

59. Field M. Tumour necrosis factor polymorphisms in rheumatic diseases. QJMed 2001; 94:237-246

60. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor α (TNF α) gene detectable by Ncol restriction of PCR product. Hum Mol Genet 1:353,1992

61. D'Alfonso S, Richiardi PM. A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region. Immunogenetics 39:150-154,1994.

62. Skoog T, Van't Hooft FM, Kallin B, Jovinge S, Boquist S, Nilsson J, Eriksson , Hamsten A. A common functional polymorphism (C---A substitution at position -863) in the promoter region of the tumour necrosis factor-α (TNF α) gene associated with reduced circulating levels of TNF- α. Hum Mol Genet 8:1 443-1449, 1999

63. Wilson AG, Gordon C, di Giovine FS, de Vries N, van de Putte LB, Emery P, Duff GW. A genetic association between systemic lupus erythematosus and tumour necrosis factor alpha. Eur J Immunol 24: 191-195, 1994.

64. Rood MJ, van Krugten MV, van der Linden MW, Keijsers V, Schreuder GMT,Verduyn W, Westendorp RG, de Vries RR, Breedveld FC, Vejweij CL, Huizinga TW.TNF-308 A and HLA-DR3 allels contribute independently to susceptibility to systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheumatism 2000;43: 129-134.

65. Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, Kondeatis E, Madanat W, Zureikat H, Fayyad F. Marr JE, Kanawati CA, Stanford MR. HLA and tumour necrosis factor (TNF) polymorphisms in ocular Behçet's disease. Tissue Antigens 54: 264-272, 1999

66. Öz D, Karslı F, Atalay A, Şahin Ş. TNF-alpha gene polymorphisms in Behçet's disease. In: Behçet's Disease, Proceedings of the 9th International Conference on Behçet's Disease: Bang D, Lee ES, Lee S (eds). Design Mecca Publishing Co. Seoul, 2000, pp 161-165.

67. Ateş A, Kinikli G, Düzgün N, Duman M.Lack of association of tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms with disease susceptibility and severity in Behçet's disease.Rheumatol Int. 2006 Feb;26(4):348-53. Epub 2005 May 5.

68. Pertovaara M, Hulkkonen J, Antonen J, Holopainen P, Laippala P, Pasternack A, Hurme M. Polymorphism of the tumour necrosis factor-alpha gene at position -308 and renal manifestations of primary Sjogren's syndrome. Rheumatology (Oxford). 2004 Jan;43(1):106-1077.

69. Gottenberg JE, Busson M, Loiseau P, Dourche M, Cohen-Solal J, Lepage V, Charron D, Miceli C, Sibilia J, Mariette X. Association of transforming growth factor beta1 and tumour necrosis factor alpha polymorphisms with anti-SSB/La antibody secretion in patients with primary Sjogren's syndrome. Arthritis Rheum. 2004 Feb;50(2):570-80.

70. Kaijzel EL, Brinkman BMN, van Krugten MV, Smith L, Huizinga TWJ, Verjans GM, Breedveld FC, Verweij CL. Polymorphism within the tumour necrosis factor α (TNF) promoter region in patients with ankylosing spondylitis. Human Immunol 60: 140-144,1999.

71. Höhler T, Schaper T, Schneider PM, zum Büschenfelde KM, Marker-Hermann E. Association of different tumour necrosis factor α promoter alleles frequencies with ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. Arthritis Rheum 41: 1489-1492, 1998.

72. De la Concha EG, Fernandez-Arquero M, Vigil P, Rubio A, Maluenda C, Polanco I,Fernandez C, Figueredo MA. Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. Human Immunol 61: 513-517,2000.

73. Galbraith GM, Pandey JP. Tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene polymorphism in alopecia areata. Hum Genet 96: 433-436, 1995.

74. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumour necrosis factor α. promoter on transcriptional activation. Proc Nat1 Acad Scİ 94: 3195-3199, 1997.

75. Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumour necrosis factor- α promoter polymorphism effects transcription. Mol Immunol 34: 391-399, 1997.

76. Brinkman BMN, Zuijdgeest D, Kaijzel EL, Breedveld FC, Verweij CL. Relevance of the tumour necrosis factor alpha (TNF-α) -308 promoter polymorphism in TNF-αgene regulation. J Inflamm 46: 32-41, 1996

77. AlIen RD. Polymorphism of the human TNF-a. promoter - random variation or functional diversity ? Mol Immunol 36: 1017-1027,1999.

78. Yilmaz E, Balci B, Kutlay S, Ozen S, Erturk S, Oner A, Besbas N, Bakkaloglu A (2003) Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF-alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. Turk J Pediatr 45:198–202

79. Akar N, Hasipek M, Akar E, Ekim M, Yalcinkaya F, Cakar N. Serum amyloid A1 and tumour necrosis factor-alpha alleles in Turkish Familial Mediterranean Fever patients with and without amyloidosis. Amyloid. 2003 Mar;10(1):12-6.

80. Celebi Kobak A, Kobak S, Kabasakal Y, Akarca US. Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism in patients with Familial Mediterranean Fever. Clin Rheumatol. 2006 Oct 21

81. Nakamura A, Matsuda M, Tazawa K, Shimojima Y, Ikeda S. Successful treatment with İnfliximab and low-dose methotrexate in a Japanese patient with Familial Mediterranean Fever. Intern Med. 2007;46(15):1247-9. Epub 2007 Aug 2.