TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ'NDE İNTERLÖKİN-4 GEN POLİMORFİZMİNİN HASTALIĞIN SEYRİNE OLAN ETKİSİ

Dr. Elyesa KARACA

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 Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necati ÖRMECİ olmak üzere, tüm İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmamın yürütülmesinde bana her türlü destek ve yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Ferhat GÖKAY'a ve Doç. Dr. Aşkın ATEŞ'e, Biyolog Dr. Türker DUMAN nezdinde tüm İmmünoloji laboratuvarı çalışanlarına, tezimin istatistik değerlendirmesinde bana yardımcı olan Zeynep BIYIKLI'ya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ana Bilim Dalı'ndaki ihtisasım süresince birlikte çalışma imkanı bulduğum tüm İç Hastalıkları asistan ve uzman doktorlara, eğitimim süresince bana maddi ve manevi konuda her türlü yardımları sağlayan annem Şevvale KARACA ve kayınpederim Celal ZULİ'ye, iyi ve kötü günümde her zaman yanımda olan sevgili eşim Şükran KARACA'ya ve biricik kızım Yaren'e sevgilerimi ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Elyesa Karaca

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	i
Teşekkür	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	viii
1**. GİRİŞ VE AMAÇ**	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Patogenez	4
2.2. Klinik	6
2.2.1. Amiloidoz	9
2.2.2. Laboratuar bulguları	9
2.3. Tanı	10
2.4. Ayırıcı tanı	13
2.5. Tedavi	14
2.5.1. Sitokinler	15
2.5.2. İnterlökin-4	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Moleküler analizler	18
3.2. Mutasyon analizi	18
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	38
ÖZET	39
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	40
KAYNAKLAR	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAA	Ailevi Akdeniz Ateşi
FMF	Familial mediterannean fever
MHC	Major histocompatibility complex
MEFV	Familial mediterranean fever geni
TNF	Tumor necrosis factor
IL-4	İnterlökin- 4
IFN	İnterferon
CRP	C reaktif protein
BSF-I	B hücre uyarıcı faktörü
BCDF-I	B hücre farklılaşma faktörü
BCGF-I	B hücre büyüme faktörü
PCR	Polymerase chain reaction
RFLP	Kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi
C/C	Sitozin/sitozin
C/T	Sitozin/timin
T/T	Timin/timin
IgE	İmmünglobülin E
Th1	T helper 1
Th2	T helper 2

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa No
3.2	IL4 geni -590. promoter bölgesindeki C/C, C/T ve T/T polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	19
4.1	Hasta ve kontrol gruplarındaki IL-4 polimorfizmleri	22
4.2	Hastalık şiddetine göre hastaların dağılımı	22
4.3	AAA hastalık ciddiyeti skorlamasına göre IL-4 gen polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi	26
4.4	Başlangıç AAA yaşına göre hastaların değerlendirilmesi	27
4.5	AAA'lı hastalarda kullanılan kolşisin dozu	28
4.6	AAA'lı hastalarda kolşisin kullanım öncesi ve sonrası aylık atak sayısı	29
4.7	AAA'lı hastalarda erizipel varlığı	30
4.8	AAA'lı hastalarda artrit varlığı	31
4.9	Erizipel ve artrit olan AAA hastaları	31
4.10	AAA tanısı olup da amiloidoz varlığı olan hastalarda IL-4 gen polimorfizmi	33

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa no
2.1.3	Mutasyonların etnik kökenlere göre dağılımı	5
2.3.1	Livneh ve arkadaşlarının AAA tanı kriterleri	10
2.3.2	AAA'nde Tel Hashomer tanı kriterleri	11
2.3.3	Pras ve arkadaşlarına göre hastalık ciddiyeti skorlaması	12
2.4	AAA ile ayırıcı tanı gerektiren hastalıklar	13
4.1	AAA hastalarında IL-4 gen polimorfizmi	21
4.2	Kontrol grubu hastalarında IL-4 gen polimorfizmi	21
4.3	Hafif AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri	23
4.4	Orta AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri	24
4.5	Ciddi AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri	25
4.6	Hastalarımızdaki IL-4 gen polimorfizminin hastalık şiddetine göre dağılımı	26
4.7	AAA'lı hastalarda kullanılan kolşisin dozu	27
4.8	AAA'lı hastalarda kolşisin kullanım öncesi aylık atak sayısı	28
4.9	AAA'lı hastalarda kolşisin kullanım sonrası aylık atak sayısı	29
4.10	AAA'lı hastalarda erizipel varlığı	30
4.11	AAA'lı hastalarda artrit varlığı	30
4.12	AAA tanısı olup da amiloidoz varlığı olan hastalar	32

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA-FMF), çoğu kez ateş yükselmesi ile birlikte olan periton, sinovyum, plevra ve nadiren de perikardın tutulduğu, 12 ila 96 saat süren, kendi kendine iyileşen akut inflamasyon atakları ile ortaya çıkan, otozomal resesif geçişli ve etnik kökenli bir hastalıktır. Ataklar belirsiz aralar ile yineler ve hastalık yaşam boyu sürer. Prognozu belirleyen en önemli komplikasyon sekonder amiloidoz gelişmesidir. Özellikle Doğu Akdeniz'de yaşayan halklardan Sefardik Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Akdeniz çevresinde yaşayan Araplarda görülür. Ailevi Akdeniz Ateşi herediter peryodik ateşler grubu hastalıklarının prototipini oluşturur.

Yaklaşık 50 yıl önce tanımlanmış olan bu hastalığın teşhisi o zamandan beri klinik bulgulara dayalıdır. Fakat AAA çalışmalarında çok önemli bir gelişme olarak, 1997'de AAA'dan sorumlu genin klonlanması daha kesin bir tanı yöntemi olarak karşımıza çıkmış ve klinisyenlerin semptomatik hastalarda spesifik mutasyonları tanımlamasına olanak tanımıştır.

Sitokinler, organizmada immün sisteminin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Sitokinler, yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynarken aynı zamanda hücrelerarası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta önemli rol oynarlar. Sitokin genlerindeki fonksiyonel polimorfizmlerin hastalıkla olan ilişkisinin tesbitinin özellikle bilinen ve uygulanan tedavilere dirençli vakaların tedavisinde yeni ufuklar açabileceği düşünülmektedir. İnterlökin-4 hücre siklusunun farklı evrelerinde B hücre üzerine farklı etkiler gösterir. Dinlenmekte olan B hücrelerinde IL-4 hücrelerin boyut olarak büyümesini ve ClassII MHC ekspresyonunu arttıran aktive edici bir faktör olarak davranır. Bir antijenin veya mitojenin uyarısını takiben, B hücrelerinden DNA replikasyonunu sağlayan bir büyüme faktörü olarak davranır. IL-4 T hücre gelişiminde de önemli rol oynar. Bir immün cevap sırasında yardımcı T hücrelerinin Th2 hücrelerine

farklılaşmasını desteklemede etkisinin olduğu kabul edilir. IL-4 mast hücre büyüme faktörü olarak davranır. IL-4 etkileri, Th1 hücreleri tarafından yapılan IFN gamma tarafından nötralize edilir. Bazı immünolojik hastalıklarda Th1 hücrelerinin bazılarında da Th2 hücrelerinin daha aktif olduğu ve hastalıkların seyrini etkilediği biliniyor. Bugüne kadar romatoid artrit, allerjik hastalıklar, kolorektal kanserler ve diğer hastalıklarda IL-4 genetik polimorfizminin hastalıklara olan etkisi araştırılmış, ancak AAA hastalığında IL-4 polimorfizmiyle ilişkili çalışmaya rastlanmamıştır. Oysa IL-4'ün allerjik inflamasyonda ön plana çıkan anahtar rolünün pekala AAA'nde de olma olasılığı bulunmaktadır.En azından Th1/Th2 hücreleri arasındaki dengenin hemen her inflamasyonda bir tarafın ağırlığında değiştiği biliniyor. Bu hücrelerin fonksiyonlarını etkileyebilecek bir polimorfizmin hastalıkların ortaya çıkması ve seyri üzerinde etkilerinin olabileceği beklenmektedir.

Bu bilgiler dahilinde biz de inflamasyon ataklarıyla seyreden AAA hastalarında Th2 hücrelerinin sitokini olan IL-4'ü kodlayan gendeki polimorfizmlerinin hastalığın ortaya çıkması ve seyri üzerine olabilecek etkilerini araştırmak istedik. Elde edeceğimiz bulgular belki de hastalığın ve komplikasyonlarının kontrol altına alınmasında yeni bir pencere açabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Ailevi Akdeniz Ateşi

2.1.1. Tanım

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA-FMF), çoğu kez ateş ile birlikte olan periton, sinovyum, plevra ve nadiren de perikardın tutulduğu, 12 ila 96 saat süren, kendi kendine iyileşen akut inflamasyon atakları ile ortaya çıkan, otozomal resesif geçişli ve etnik kökenli bir hastalıktır(24,31,35,60). Ataklar değişen aralıklar ile yineler ve hastalık yaşam boyu sürer. Kolşisin ile tedavi edilmediği takdirde, bazı hastalarda böbrek yetmezliği ve diğer organ hasarı ile sonuçlanabilecek yaygın amiloidoz gelişebilir. Prognozu belirleyen en önemli komplikasyon sekonder amiloidozdur. Özellikle Doğu Akdeniz'de yaşayan halklardan Sefardik Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Akdeniz çevresinde yaşayan Araplarda görülür. Ailevi Akdeniz Ateşi herediter peryodik ateş grubu hastalıklarının prototipini oluşturur. Peryodik hastalık, ailevi paroksismal poliserozit, herediter rekürran poliserozit gibi isimlerle de anılmaktadır.

2.1.2. Tarihçe

Hastalık ilk kez 1908 yılında Janeway ve Mosenthal tarafından 16 yaşında Yahudi bir kızda tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları "değişik bir paroksismal sendrom" olarak tanımlanmıştır. Bundan sonra, hastalığın ilk ayrıntılı tanımlanması 1945'te Siegal tarafından " benign paroksismal peritonit " adı ile yapılmıştır(57). 1946 yılında ülkemizde ilk kez A.Marmaralı'nın " garip bir karın sendromu "(1) adı altında tanıttığı bu hastalığa 1948 yılında Riemann " peryodik hastalık " demiştir(51). 1951 yılında Mammou ve Cattan hastalığın ailesel geçişini ve amiloidozla olan ilişkisini göstermişlerdir(41). Hastalığın ayrıntılı tanımlanması 1955 ve 1958 yılları arasında İsrail'li araştırmacı Heller tarafından yapılmıştır(25). 1965 yılında Siegal " Ailevi Paroksismal poliserozit " ismini kullanmıştır. Sohar ve

arkadaşlarının önerdiği “ Familial Mediterranean Fever “ (Ailevi Akdeniz Ateşi) ismi 1967 yılından beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Hastalık ile ilgili daha sonraki en önemli gelişmeler ise, 1972’de kolşisinin tedaviye girmesi, 1992’de hastalıkla ilgili genin yerinin saptanması ve 1997’de ise genin klonlanmasıdır(8,60).

2.1.3. Patogenez

Ailevi Akdeniz Ateşi ifadesi, hastalığın klasik 3 klinik özelliğini de içeriyor;
-otozomal resesif kalıtım şeklinin olması,
-özellikle Akdeniz ırkını etkilemesi ve
-tekrarlayan ateş atakları ile seyretmesi.

İnfantil dönemde ortaya çıkan bazı AAA vakaları olsa da, hastaların çoğu ilk ataklarını çocukluk veya adolesan döneminde, %80’inden fazlası 20 yaşından önce geçirirler(15,24,31,60). Erkek/kadın oranının 1.5-2.0/1.0 olarak rapor edilmiş olması, mutasyonun kadınlara geçişi azalttığı ihtimalini düşündürüyor. Kadın hastaların çoğunda atakların sıklıkla menstrüel siklusla birlikte olması, kadın seks hormonlarının hastalık üzerine etkisi olabileceğini düşündürüyor. Ayrıca, birçok kadın hasta, ataklarının gebelik sırasında kaybolup, doğumdan sonra geri geldiğini söylüyorlar. Hastalığın etyopatogenezi; bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmasına karşın henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İnfeksiyon, allerji ve psikolojik bozukluklar suçlanmışsa da bir ipucu bulunamamıştır.

Etyopatogenezi açıklamak için öne sürülen görüşler iki ana grupta toplanmaktadır. Birinci görüşe göre AAA bir katekolamin metabolizma bozukluğudur. Aşırı miktarda endojen katekolamin salınımı nöbetleri ortaya çıkarmaktadır. Bu görüş artık güncelliğini yitirmiştir. Etyopatogenezi güncel olarak açıklayan görüş, inflamasyon yanıtında bir bozukluğa dayanmaktadır. Buradaki ilk bozukluk, defektif nötrofil lizozom fonksiyonuna bağlı olarak ortaya çıkan yalancı inflamatuvar uyarılardır. Buna yol açan ise, AAA hastalarının serumlarında ve seröz sıvılarında eksik olan C5a inhibitör düzeyidir. Hastalıkla ilgili epidemiyolojik ve klinik çalışmalar kalıtımın önemli bir rol oynadığını yıllardan beri düşündürmekte olmasına rağmen kalıtımın kesin rolü 1992 yılında AAA geninin 16. kromozomun kısa kolunda olduğunun saptanması ile ortaya konmuştur. Daha sonraları bu gen

klonlanmış ve 1997 yılında MEFV adı verilmiştir. MEFV genine pirin/marenostrin denmiş ve AAA'nin bu gendeki mutasyonla oluştuğu saptanmıştır. Pirin/marenostrin geni 10kb uzunluğunda olup, 10 eksondan oluşmuştur ve 781 aminoasitli pirin proteinini kodlamaktadır(53). Bu genle ilgili bulunan tüm mutasyonlar 10. eksonda saptanmıştır(12,60). Pirin/marenostrin proteininin görevi, nötrofil aktivasyonunu baskılayarak inflamasyonu inhibe etmektir. MEFV genindeki herhangi bir mutasyon pirin proteininin antiinflamatuvar görevini engellemekte, sonuçta hastalık bulguları ortaya çıkmaktadır. Bugüne kadar AAA ile ilgili 19 MEFV mutasyonu gösterilmiş olup, bunlar içinde M694V mutasyonu homozigot olmasa da amiloidoz daha sık bulunmuştur(10,42,59,61,67). MEFV geninin klonlanmasıyla bulunan en yaygın 4 mutasyon şöyledir:

1. metionin yerine valin geçmiştir. (M694V)
2. valin yerine alanin geçmiştir. (V726A)
3. metionin yerine izolösin geçmiştir. (M680I)
4. metionin yerine izolösin geçmiştir. (M694I)

AAA'li Türk ailelerinde M694V mutasyonun ilk sırayı aldığı, amiloidli AAA'lilerin hepsinde en az bir alelde M694V mutasyonunun saptandığı belirtilmiştir(42,46).

Bugünkü durum moleküler tanı açısından fazla tatminkar değildir. Çünkü klinik olarak kesin AAA olan hastaların FMF geni (MEFV) mutasyonları bakımından sadece %70'i homozigot veya compound 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.

Tablo 2.1.3: Mutasyonların etnik kökenlere göre dağılımı

Mutasyon	**Hastaların etnik kökeni**
M694V	Kuzey Afrika, Irak Yahudileri, Ermeniler, Türkler, Araplar
V726A	Irak Yahudileri, Askenazi Yahudileri, Dürziler, Ermeniler
M680I	Ermeniler
M694I	Ermeniler

2.2.Klinik

AAA tipik olarak karın ağrısı, göğüs ağrısı ya da eklem ağrısı şikayetlerinin eşlik ettiği akut ateş krizleri şeklinde görülür. Krizlerin süresi genellikle 2-3 gün, bazen daha uzun (7-10gün)'dür. Krizlerin sıklığı yılda bir iki defadan haftada bir iki defaya kadar değişebilir. Kriz aralıkları çoğunlukla düzensiz, nadiren peryodiktir. Bazı hastalarda uzun aylar ya da yıllar süren spontan remisyonlar görülebilir. Krizlerin şiddeti ve sıklığı yaş ilerledikçe azalır. AAA'nın iki 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 amiloidoz tablosu olarak tanımlanabilir.

Ateş

Hastalığın en tipik bulgularından biridir. Hemen bütün hastalarda nöbetlerinin bir döneminde ateş vardır. Ancak ateşsiz nöbet tanımlayan az sayıda hasta da vardır. Ateş üşüme, titreme ile başlayabilir ve 12-24 saatte 39-40 dereceyi bulabilir. Aşırı bir terleme ile çoğu kez 48 saatte düşer. Kolşisin alan hastalarda nöbetlerin ateş boyutu yaşanmayabilir. Tekrarlayan tek başına ateş epizotları veya konstitüsyonel semptomlarla birlikte ateş görülür. AAA için karakteristik fakat spesifik değildir. Peryodik ateş sendromları adıyla anılan hastalıklarda ve başka bazı hastalık durumlarında da görülebilir(15,38,63).

Karın ağrısı

AAA'nın, ateşten sonra en sık görülen klinik bulgusudur. Ağrı yaygın ya da tek bir kadranda lokalize olabilir. Karın ağrısının şiddeti hafif şişkinlik hissinden tahta karın bulgusu, direkt ve indirekt rebound hassasiyeti ve ayakta direkt batın grafisinde hava-sıvı seviyelerinin eşlik ettiği ağır peritonit tablosuna kadar değişen geniş bir spektrumda olabilir(24,31,60). Peritondaki inflamasyon peristalsisi yavaşlatır ve dolayısıyla hastalar ishalden daha çok kabızlık yakınması ile başvururlar. Hastalar sorgulandıklarında genellikle steril, enflame bir periton dışında pozitif bulgu vermeyen appendektomi, eksploratuar laparotomi ya da laparoskopik bir cerrahi operasyon geçirmişlerdir. Hatta bir çalışmada, AAA hastalarının gereksiz acil cerrahi

girişimlere maruz kalmamaları için elektif laparoskopik appendektomi yapılması önerilmiştir. Gerçekten de bu hastalar ilk prezente olduklarında (çoğunlukla 20 yaşından önce) ayırıcı tanıda hekimlerin ilk aklına gelen akut apandisit olur. Ateş ve ağrının kendiliğinden geçmesi ya da appendektomiye rağmen durumun tekrarlaması hekimi başka bir neden aramaya iter. Kadınlarda, endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık ve yumurtalık kistlerini ekarte etmek için jinekolojik değerlendirme yapılmalıdır. Porfiri gibi peryodik karın ağrısı ve ateşle seyreden hastalıklar da akılda tutulmalıdır. Porfiri, otozomal dominant geçişlidir ve ataklar sırasında hipertansiyon ve idrarda artmış porfirin düzeyleri ile karakterizedir. Herediter anjiyoödem: ateşsiz karın ağrısı atakları ile karakterize, dominant geçişli bir hastalıktır ve c1 inhibitör esteraz seviyeleri azalmıştır. Ailesel hipertrigliseridemiye sekonder pankreatit atakları da AAA'nkine benzer gelip geçici karın ağrılarına neden olabilir fakat bu hastalarda trigliserit seviyeleri genellikle 1000mg/dl'nin üzerindedir.

Göğüs ağrısı

Yahudi, Arap ve Türk hastaların yaklaşık %50'de plevra tutulumu (plörezi) gözlenir. Ermenilerde bu oran çok daha yüksek olabilir. Plörezi genellikle tek taraflıdır, fizik muayenede solunum sesleri şiddetinde azalma ve frotman duyulabilir; radyografide az miktarda efüzyon ya da atelektazi alanları görülebilir(10,24,66). Alınan plevral sıvı transüda karakterindedir. Plörezi atağı geçiren bir hastada tanısal zorluklardan biri de perikardiyal bir atak olup olmadığını teşhis etmektir. Çok nadiren perikardiyal tamponad veya konstriktif perikardit görülebilir. Perikardit AAA'lı hastaların %0.5'de raporlanmıştır(29).

Eklem atakları

Ateş ve karın ağrısından sonra, AAA'nın en sık görülen 3. klinik bulgusudur. Eklem tutulumundan %70 olguda artrit, %30 olguda ise artralji şeklinde görülür. AAA'daki artrit, çoğunlukla alt ekstremiteye yerleşen, sekel bırakmayan, gezici olmayan, eroziv olmayan akut monoartrittir. Genellikle birkaç gün veya 1-2 hafta içinde kendiliğinden kaybolur. AAA'daki eklem tutlumundan, en çok ayakbileği ve dizler etkilenir(24,59,60,38). Sonra, sırası ile kalça, elbileği, omuz ve dirsekler hastalığa katılabilir. Tutulan eklem tipik olarak oldukça şiş ve kızarık görünümlüdür. Çok nadiren oligo veya poliartiküler tipte eklem tutulumu ve uzamış artritler görülebilir. AAA'nın ilginç eklem tutulumlarından birisi de, HLA-B27 negatif sakroiliitle

seyreden, seronegatif spondiloartropati tablosudur. Bu klinik tablo çoğunlukla hastalığın aktif döneminde akut olarak ortaya çıkar ve kısa sürede kaybolur. Nadiren bu klinik tablo kronikleşebilir. AAA artritinde alınan sinovyal sıvı, lökositten zengindir, akışkanlığı azalmıştır, buna karşılık müsin pıhtısı parçalanmaz ve sıvı sterildir.

Erizipel benzeri eritem

Erizipel benzeri eritem birçok uzmana göre AAA'nın en karakteristik deri lezyonudur. Bu lezyon çoğunlukla ayak sırtında ve tibia alt ön yüzünde yer alan, kızarık, şiş ve ağrılı bir lezyondur. 10-15cm çapında şişlikler görülebilir. Döküntü ağrılı dönemlerde ve artritle birlikte ortaya çıkar. Önemli olan bir diğer cilt bulgusu ise, vaskülitlerdir.

Skrotal ağrı

AAA hastalarının küçük bir kısmında akut skrotal inflamasyon gelişir. Bu durum sıklıkla tek taraflıdır ve prepubertal erkeklerde ilk bulgu olabilir. Bu vakalarda ataklar 12 saat içinde giderek artan şiddette ağrı, skrotal şişlik, ödem ve etkilenen kasığın şişlik ve hassasiyetini içerir, vakaların çoğunda sadece tunika vaginalis inflamasyonu olmasına rağmen testis torsiyonu da görülebilir.

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 ile karakterize " uzamış febril miyalji " tablosunu oluşturur. Nadir bazı vakalarda poliarteritis nodosa eşlik eder(39). Atipik perikardit bulgularına daha sık rastlanır. Mollaret menenjiti tarzında tekrarlayan aseptik menenjit, krizlere eşlik eden ağır başağrıları, EEG değişiklikleri, gözde kolloid cisimler, splenomegali, daha seyrek olarak hepatomegali ve mikroadenomegali bulunabilir. Hasta çocuklarda gelişme yavaşlaması, zayıflama, nörotik hal, çeşitli psikolojik bozukluklar görülebilir.

2.2.1.Amiloidoz

AAA ile birlikte amiloidoz görülebileceği ilk kez 1952 yılında Mamou ve Cattan tarafından bildirilmiştir(53). Amiloidoz komplikasyonuna çeşitli ülke ve etnik gruplarda %5-10 sıklığında rastlanmaktadır(60,63,65). ABD'deki Yahudi ve Ermenilerde yok denecek kadar nadir görülmesi enteresandır. Türkler, Sefardik Yahudiler ve Ermenilerde sıktır. Kolşisinin yaygın kullanım nedeni ile AAA'lı hastaların sadece küçük bir kısmında amiloidoz gelişmektedir. Amiloidoz gelişimi atakların sıklığı, süresi ve şiddetinden bağımsızdır. Amiloidoz gelişiminde hem genetik hem de çevresel faktörler rol oynar. 600'den fazla hastayı içeren bir çalışmada ailesinde amiloidoz hikayesi olanlarda amiloidoz gelişme riskinin 6 kat arttığının gösterilmesi genetik yatkınlığının önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Organ tutulması tamamen diğer sekonder amiloidozlardaki gibi olup, en önemli olanı böbrek tutulmasıdır. Böbrek tutulması 4 dönem gösterir:

1)preklinik dönem,

2)devamlı proteinüri dönemi,

3)nefrotik sendrom dönemi,

4)üremi dönemi.

Proteinürinin ortaya çıkışından sonra ortalama yaşam süresi 7 yıldır. Amiloidoz tanısı için biyopsi örneğinin Congo Red ile boyanıp polarize ışık mikroskobunda bakıldığında karakteristik elma yeşili renk görülmesi gerekir. Amiloidoza bağlı olarak bazı vakalarda gizli, bazı vakalarda manifest gastrointestinal amiloidoz görülebilir. İshal, karın ağrısı, malabsorbsiyon, kanama, perforasyon olabilir.

2.2.2. Laboratuvar bulguları

Anemi nadirdir. Lökositoz özellikle krizler esnasında hemen daima vardır. Lökomoid reaksiyon ve lökopeni nadirdir. Devamlı lökositoz, amiloidozu düşündürmelidir. Trombosit sayısı normaldir. Eritrosit sedimentasyon hızı krizler esnasında hemen daima artmış olup, seyrek de olsa çok yüksek bulunabilir. Akut faz reaktanları (CRP, fibrinojen, haptoglobulin, alfa2 makroglobulin, serum amiloid A proteini, C3,C4) krizler sırasında yüksektir. İdrarda zaman zaman mikrohematüri,

febril proteinüri saptanır. Devamlı proteinüri en çok amiloidozu daha seyrek olarak da non amiloid böbrek lezyonunu düşündürür. Radyolojik inceleme ile krizler esnasında minimal plevral sıvısı bulguları, akut ileusu düşündüren bulgular görülebilir. Eklemlere ait radyolojik değişiklikler, kronikleşme gösteren vakalarda, periferik eklemler, sakroiliak eklemler ve vertebrada görülebilirler. Barsak amiloidozu olan vakalarda ince barsakta motilite değişiklikleri bulunabilir. Krizler arası dönemde sedimentasyon hızı ve akut faz reaktanlarının yüksek oluşu amiloidoz ya da vasküliti düşündürür.

2.3. Tanı

AAA tanısı için kullanılabilecek spesifik bir test olmadığı için, klinik tanı kuraldır. Kısa süreli serozit ve ateş ataklarının varlığı, amiloidoz gelişimi ve kolşisin tedavisine alınan cevap baz alınarak Tel Hashomer tanı kriterleri oluşturulmuştur(21,59). Uygun klinik ve laboratuar bulgularının varlığında, uygun etnik gruptan olma, kolşisine yanıt ve başka bir nedene bağlı olmayan AA tipi amiloidozun bulunması tanı için önemlidir. İlk tanı kriterleri 1967 yılında Sohar tarafından belirlenmiştir. Ancak günümüzde en sık kullanılan tanı kriterleri 1998'de Avi Livneh ve arkadaşları tarafından tanımlanan tanı kriterleri ve Tel Hashomer tarafından tanımlanan tanı kriterleridir(24,38,40).

Tablo-2.3.1: Livneh ve arkadaşlarının AAA tanı kriterleri

Major kriterler	**Minor kriterler**
1-4'teki **tipik ataklar**	Aşağıdakilerin inkomplet atakları
1.peritonit (generalize)	1.göğüs
2.plevrit (tek taraflı) veya perikardit	2.eklem
3.monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)	3.egzersize bağlı bacak ağrısı
4.tek başına ateş	4.kolşisine iyi cevap
5.**inkomplet abdominal ataklar**	

a) **AAA tanısı için gerekenler:**1 veya üstü major veya 2 veya üstü minor kriter

b) **Tipik ataklar:**

Tekrarlayıcı (aynı yerde 3'ten çok),

Ateşli (rektal, 38 derece veya daha yüksek),

Kısa süreli (12 saat-3 gün) nöbetlerdir.

c) **İnkomplet ataklar:** aşağıda belirtilen özelliklerden birisi veya ikisi bakımından tipik ataklardan farklı, ağrılı ve tekrarlayıcı ataklardır,

1) normal veya 38 dereceden düşük ateş
2) klasik nöbetlerden daha uzun veya daha kısa nöbetler
3) abdominal ataklar esnasında peritonit bulgularının olmaması
4) lokalize abdominal ataklar
5) spesifik yerlerden başka yerleri tutan artrit

Tablo-2.3.2: AAA'nde Tel Hashomer tanı kriterleri

Major kriterler	**Minor kriterler**
1.serözitin eşlik ettiği tekrarlayan ateş atakları	1.tekrarlayan ateş atakları
2.yatkınlaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidoz varlığı	2.erizipel benzeri eritem varlığı
3.kolşisin tedavisine anlamlı yanıt alınması	3. 1.derecede akrabalarında AAA varlığı
Kesin tanı:2 major veya 1 major+2 minor kriter	**Olası tanı:1 major+1 minor kriter**

AAA'da hastalık ciddiyetinin değerlendirilmesi

Günümüzde AAA'da hastalık ciddiyetinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan skorlama Pras ve arkadaşlarının yaptığı skorlama sistemidir. Bu skorlama sisteminde hastalığın başlangıç yaşı, aylık atak sayısı, artritin akut ya da uzamış olma durumu, erizipel benzer eritemin olup olmadığı, amiloidoz gelişip gelişmediği ve kullandığı kolşisin dozuna göre hastalara belirli puanlar verilmekte ve bu puanlamaya göre hastalık hafif, orta ve ciddi olarak sınıflandırılmaktadır; (40,50)

3-5 puan:hafif,

6-8 puan:orta ve

9 ve üzeri puan: ciddi

Tablo-2.3.3: Pras ve arkadaşlarına göre hastalık ciddiyeti skorlaması

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
Amiloidoz varlığı		3
Kolşisin dozu (mg/gün)	1	1
	1.5	2
	2	3
	>2	4

2.4. Ayırıcı tanı

Eklem tutulumu ön planda olan hastalar en fazla juvenil romatoid artrit (sistemik JRA, Still's hastalığı) ve daha az sıklıkta akut romatizmal ateş (ARA) ile karışabilmektedir.

Hiperimmünglobulinemi D sendromu (HIDS) AAA ile en çok karışan hastalıktır. Eklem tutulumu ön planda olan hastalar ise en fazla juvenil romatoid artrit (sistemik JRA, Still's hastalığı) ve daha az sıklıkta akut romatizmal ateş (ARA) ile karışabilmektedir. HIDS sendromu otozomal resesif geçişli, tekrarlayıcı ateş, artrit, kusma, diyare, karın ağrısı, deri lezyonları, lenfadenopati, başağrısı ile karakterize seyrek görülen bir hastalıktır. Avrupa, Şili, Japonya, daha az sıklıkta Türkiye'de görülmektedir. Bütün hastaların serum IgD düzeyleri yükselir. Tedavisi yoktur, fakat atakların sıklığı ve şiddeti yaşla birlikte azalma eğilimindedir. AAA hastalarında ise ataklar sırasında HIDS'deki gibi yüzeyel lenf bezlerinde şişme görülmemektedir ve ancak %13'de IgD yükselmekte, kolşisin ile atakların sıklığı ve şiddeti azaltılabilmektedir.

Tablo-2.4: AAA ile ayırıcı tanı gerektiren hastalıklar

1.Diğer herediter "peryodik ateşler":TNF assosiye peryodik sendrom, hiper IgD sendromu, Muckle-Wells sendromu, familyal soğuk otoinflamatuvar sendrom
2.Akut intermittent porfiri
3.Primer hiperlipoproteinemi (familyal lipoprotein lipaz eksikliği)
4.Akut karın sendromu
5.Akut apandisit
6.Akut kolesistit
7.Akut pankreatit
8.Tekrarlayan pankreatit
9.Akut perikardit
10.Akut menenjit
11.Mollaret menenjiti
12.Febris rheumatica
13.Septik artrit

14.Juvenil idyopatik artrit (sistemik formu)
15.Tüberküloz artriti
16.Gut
17.Henoch-Schönlein purpurası

2.5. Tedavi

AAA tedavisinde kullanılan kolşisin "Colchium autumnale" denilen çiçekten elde edilen bir alkaloiddir. Kolşisinin 1972 yılında AAA tedavisinde kullanılmaya başlamasına kadar, tedavide birçok ilaç denenmiş ve hiçbirisi yararlı olmamıştır. Kolşisin ilk kez 1971 yılında ülkemizde Prof.Dr.Emir Özkan tarafından başarıyla kullanılmaya başlanmış, 1972 yılında Goldfinger'in (23)aynı başarıyı kanıtlamasından sonra tüm dünyada AAA tedavisinde kullanılan hemen hemen tek ilaç olmakta devam etmiştir(10,15,31,35,59). Krizler esnasında verilen kolşisinin başarısızlığına mukabil profilaktik olarak hastaların ortalama %90'da iyi ya da çok iyi sonuçlar alındığı bir gerçektir. Bitkisel kökenli bir fenantren derivesi olan kolşisin, mitozu metafazda keserek hücre bölünmesini durdurur. AAA'indeki etkisinin ise tam olarak bilinmemesine karşın, lizozomal degranülasyonu engellemek ve hücre duvarını stabilize etmek yolu ile olduğu sanılmaktadır. Bir diğer önemli etkisi ise akut faz proteinlerinden serum amiloid A düzeyini baskılamasıdır(68). Günlük 1-2mg kolşisin kullanımının etkinliği, 1974'te Zemer ve arkadaşlarını yaptığı çift-kör bağımsız randomize bir çalışmayla gösterilmiştir(38). Kolşisin tedavi edici olduğu kadar akut atakları sonlandırıp, amiloidoz gelişimini önleyen etkili bir ilaçtır. İsrail'de yapılan prospektif bir çalışmada, amiloidi olmayan 960 olgudan, 11 yıl boyunca günlük kolşisin tedavisine düzenli olarak uyan 906 hastanın %2'sinde amiloidoz gelişirken, 9 yıldan fazla tedavisine uymayan 54 hastanın %49'unda amiloidoz geliştiği bildirilmiştir(20). Özer ve arkadaşları kolşisin kullanmadan önce AAA'lıların %60'ında amiloidoz gelişirken, kolşisin kullanımı ile birlikte bu oranın %3'lere düştüğünü göstermişlerdir(47). Kolşisinin sürekli günlük olarak uygulanmasının aralıklı uygulanmasına göre amiloidozun önlenmesinde daha etkili olduğu bildirilmektedir. Kolşisinin tüm yaşam boyunca kullanılması zorunludur.

Tedaviye ara verilir verilmez ataklar yeniden başlamaktadır. Kolşisin AAA'ya bağlı amiloidoz gelişimini önlemede etkili olduğu kadar, ağır proteinürisi olan hastalarda bile böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı azaltmaktadır. Kolşisinin tedavide kullanılacak minimal dozu 1mg/gün, maksimal dozu da 2mg/gün olmalıdır. İlacın bulantı, kusma, ishal gibi gastrointestinal ve çok nadiren de lökopeni ve trombositopeni gibi yan etkileri bulunmaktadır. Kronik tedaviyle nadiren de olsa malabsorbsiyon, geçici alopesi, miyopati, nöropati, kemik iliği baskılanması gibi yan etkiler görülebilmektedir. Kolşisinin hamilelik süresince de kesilmeden kullanılması gerekmektedir. Bu olgularda 3. ayın sonunda amniyosentez uygulanması önerilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar, ilacın teratojenik ve azospermik etki göstermediğini göstermektedir. Kolşisin ayrıca emzirme döneminde de kullanılabilir. Ülkemizde Tunca ve arkadaşları kolşisin tedavisine dirençli hastalarındaki atakların tedavisinde interferon alfayı atağın hemen başında ciltaltı vererek yanıtı gözlemişler ve toplam 21 atağın 18'inde atakların sonlandığı görülmüştür. Bu tedavi şekli için plasebo kontrollü çift-kör çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

2.5.1. Sitokinler

Sitokinler hücresel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin, çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır, fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Şöyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücresel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücresel reseptörlerine bağlanırlar. Etkilerini otokrin veya parakrin şekilde gösterirler(62). Sitokinler, yabancı antijenler ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynarken aynı zamanda hücrelerarası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta önemli rol oynarlar. Çoğu sitokinlere hücresel yanıt, hedef hücrelerde gen ekspresyon değişimleri ile meydana gelir. Böylece hedef hücreler yeni fonksiyonlar geliştirebilir veya prolifere olabilir. İmmün sistemden salgılanan sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinler olup, başlıca görevleri immün sistem hücrelerini uyarmaktır.

2.5.2. İnterlökin-4

İnterlökin-4 ilk defa 1982 yılında eşzamanlı olarak Mauren Howard ve William Paul ile Dr.Ellen Vitetta'nın çalışma grubu sonucunda keşfedilmiştir. Uyarılmış B hücrelerinin IgG1salgılayan plazma hücrelerine farklılaşmasında rol oynayan T hücre faktörü olarak tanımlanmıştır. İlk isimleri B hücre uyarıcı faktör (BSF-I), B hücre farklılaşma faktörü (BCDF-I) ve B hücre büyüme faktörü (BCGF-I) olarak bildirilmiştir. 20 kd ağırlığında olup kodlayan genler 5. kromozom üzerindedir. Bu bölge IL-3, IL-5, GM-CSF, M-CSF ve M-CSF reseptör genlerini de bulundurduğundan hemopoezde önemlidir. IL-4 fibroblast proliferasyonunu arttırırken, hematopoezde " colony forming unit granulocit " (CFU-G) ve " burst forming unit macrophage " (BFU-M) üzerine ise inhibitör etki oluşturur. Monositleri aktive eder, klas II MHC belirmesini, M-CSF ve G-CSF oluşumunu arttırır, mast hücrelerini, B ve T lenfositlerini prolifere eder, B lenfositlerde IgE sentezi ile klasII MHC belirmesini uyarır ve LAK hücre oluşumuna neden olur. IL-4 B lenfositler ve monositler üzerinde IgE'nin düşük afiniteli reseptörünün (CD23) belirmesini arttırır. Makrofajların tümör hücrelerine karşı sitotoksisitesini, parazitlere karşı etkinliğini, C2 proteini ve doku plazminojen aktivatör yapımı üzerine uyarıcı etkisini arttırır. IL-4'ün bu özelliklerinden başka antikoagülan etki de oluşturduğu gösterilmiştir(6). IL-4 IgE yapımı ve naif CD4+ yardımcı T hücrelerinden Th2 hücrelerinin gelişimi için en önemli uyarıcıdır. Th2 alt grubunda CD4+ yardımcı T hücreleri ve aktive mast hücreleri tarafından sentezlenir. IL-4'ün biyolojik etkileri;

- En önemli görevi B hücrelerinde IgE sentezleyen B hücresine dönüşmesini sağlamaktır.
- Naiv CD4+ yardımcı T hücrelerinden Th2 hücre gelişimini uyarır.
- Farklılaşmış Th2 hücreleri için otokrin büyüme faktörüdür.
- IFN-gamma'nın hücresel immünitedeki etkilerini inhibe eder.

IL-4 hücre siklusunun farklı evrelerinde B hücre üzerine farklı etkiler gösterir. Dinlenmekte olan B hücrelerinde IL-4, hücrelerin boyut olarak büyümesini ve Class II MHC ekspresyonunu arttıran aktive edici bir faktör gibi davranır. Bir antijen veya mitojenin uyarısını takiben, B hücrelerinden DNA replikasyonunu sağlayan bir

büyüme faktörü gibi davranır. Prolifere olan B hücrelerinde ise IL-4, C-epsilon ve C-gamma1'i düzenleyerek farklılaşma faktörü gibi davranır (örneğin IgE ve IgG1 alttiplerinin yapımı gibi). Bu durumda "anahtar uyarıcı faktör" olarak adlandırılır. IL-4 T hücre gelişiminde de önemli rol oynar(43,45). Bir immün cevap sırasında yardımcı T hücrelerinin Th2 hücrelerine farklılaşmasını desteklemede etkisinin olduğu düşünülür. IL-4 mast hücre büyüme faktörü olarak da davranır. IL-4 etkileri (MHC-II arttırması hariç) Th1 hücreleri tarafından yapılan IFN-gamma tarafından nötralize edilir. Th2 sitokinlerinden biri olan IL-4, eozinofil matürasyonu ve migrasyonunda rol oynamaktadır. IL-4'ün hava yolu eozinofilisini düzenlediği bildirilmiştir ve senzitizasyon sırasında anti-IL-4 ile tedavi edilen farelerde eozinofili ve Th2 lenfositlerden sentezlenen sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir(32). IL-4'ün diğer bir fonksiyonu da normal koşullarda IgG ve IgM üreten B hücrelerinin IgE sentezleyen hücrelere dönüşmesini sağlamaktır. Ayrıca IL-4'e maruz kalan eozinofillerde nükleus lobülasyonu artmakta ve nükleolus belirgin bir hal almaktadır. Bu da IL-4'ün eozinofillere trofik etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Astımlı hastalarda hava yollarında IL-4 ve eozinofil düzeylerinin azaltılması hastalığın kontrolüne yardımcı olabilir. Bu nedenle yeni tedavi stratejilerinin bu konu üzerine yoğunlaştırılması gerekmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi Klinik İmmünoloji ve Romatoloji , Nefroloji ve Gastroenterolji Bilim Dalları klinik ve polikliniklerinde başvuran ve AAA tanısı konulan 44 erkek, 65 kadın, toplam 109 hasta çalışmaya kabul edildi. Hastaların yaş dağılımı 18-66 yaş arasındaydı. Kontrol grubu, ailesinde ve kendisinde AAA olmayan 115 sağlıklı kişiden oluşturuldu. Kontrol grubunun yaş dağılımı 18-41 yaş arasındaydı. Çalışmaya katılan tüm hastalar ve sağlıklı kontrol grubundaki kişilerden bilgilendirilmiş onam formları alındı. Tel Hashomer kriterleri esas alınarak AAA tanısı alan vakalardan 109 hasta ve kontrol grubunu oluşturan 115 sağlıklı bireylerden onamları alındıktan sonra genetik çalışma için EDTA'lı tüplere 10 ml periferik venöz kan örnekleri alındı.

3.1. Moleküler Analizler:

Hasta ve kontrol grubundan periferik kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. Bu amaçla bir DNA izolasyon kiti (Fermentas/ Litvanya) kullanıldı.

3.2.Mutasyon Analizi:

DNA örneği alınmış kişilerden PCR/ RFLP yöntemi kullanılarak IL-4 gen polimorfizmleri tespit edildi.

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); sonra da zincirin uzaması (polimerizasyon) aşamalarından oluşur.

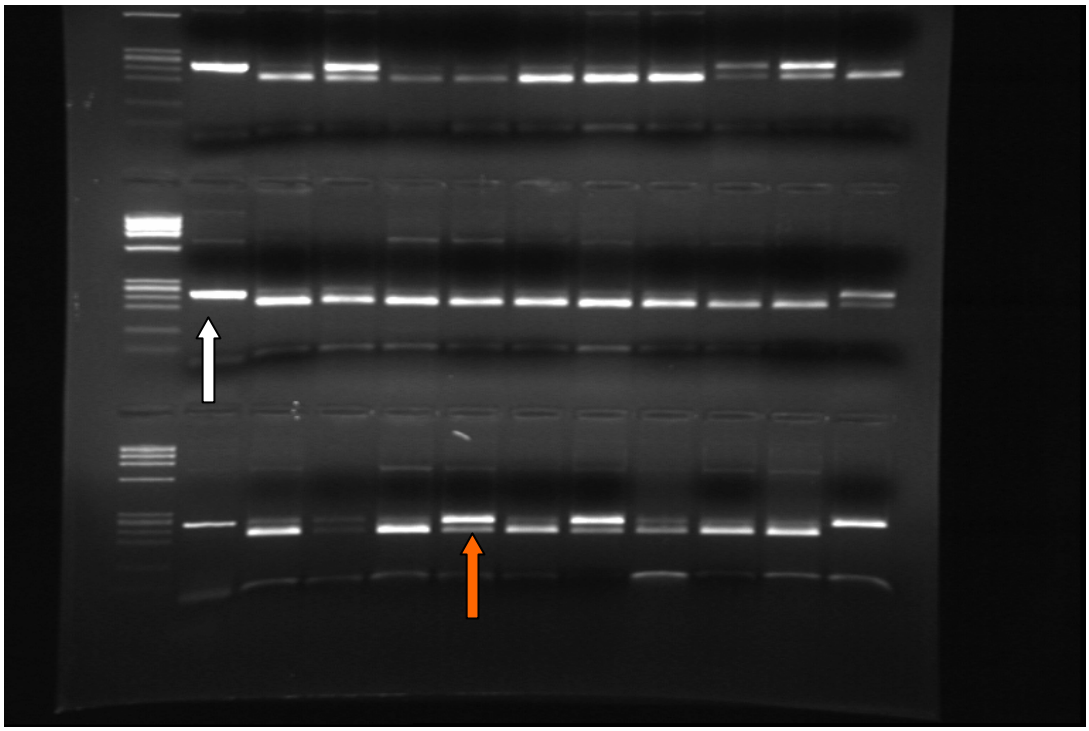
Kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi (RFLP): Restriksiyon, endonükleaz enzimleri spesifik dizileri tanıyarak çift iplikçikli DNA'nın her iki zincirindeki fosfodiester bağlarını keserek DNA'yı iki parçaya ayırır. RFLP, DNA üzerindeki polimorfizmlerin herhangi bir restriksiyon enziminin kesim noktasını ortadan kaldırması ya da herhangi bir restriksiyon endonükleaz için kesim noktası

yaratmasına dayanarak oluşan uzunluk farklılıklarına göre nükleotid değişikliklerini saptamaya yarayan bir yöntemdir.

IL-4 geninin promotorundaki –590 C/T baz değişimini incelemek üzere F5'-ACTAGGCCTCACCTGATACG-3' R 5'-GTTGTAATGCAGTCCTCCTG- 3' primerleri kullanılarak PCR yapıldı (Thermo/ Almanya). PCR uygulamaları Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9700 (Aplied Biosytems / USA) termal cycler aletinde 25 ul hacimde gerçekleşti. Son konsantrasyonlar; 1 U Taq DNA Polimeraz, 1x Taq Buffer, 0.2mM dNTP'ler, 0.5mM her iki primer, 2.5mM $MgCL_2$ ve yaklaşık 0.2 ug DNA olarak belirlendi. PCR koşulları; 94 ºC 4 dk ilk denaturasyon, 94ºC 50 sn, 55ºC 50 sn, 72ºC 50 sn toplam 35 siklus ve 72 ºC de 5dk son uzama olarak uygulandı. PCR ile çoğaltılan 252 baz çiftlik bölgedeki C-T değişimi saptamak için FaqI restriksiyon enzimiyle RFLP analizi yapıldı (Fermentas/ Litvanya). 10ml PCR ürünü 10 Unite Faq I enzimiyle gece boyunca 37 derecede muamele edildi. Il-4 –590C olan örnekler agaroz jelde elektroforez sonrasında 192+ 60 baz çiftlik iki bant, IL-4 –590T olan örnekler ise 252 baz çiftlik tek bant olarak belirlendi .

3.3. İstatistik analizi:

İstatistiksel analizler SPSS 12.0 bilgisayar paket programında yapıldı. İstatistik olarak sıklık değerleri, yüzde değerleri, ortalama, standart sapma, Mann Whitney U testi, varyans analizi, ki kare testi kullanıldı.



Şekil-3.2: IL4 geni -590. promoter bölgesindeki C/C(beyaz ok) ve C/T(turuncu ok) polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Hasta kontrol çalışmaya alınan bütün örnekler agaroz jel elektroforezi sonrasında fotoğraflanarak saklandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan 109 hastanın 44'ü (%40,36) erkek, 65'i (%59,63) kadındı. Hastaların yaş dağılımı 18-66 yaş arasındaydı. Ortalama yaş 35,39, SD:9,94'tü.109 hastanın 74'ünde (%67,88) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 30 hastada (%27,52) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5 hastada (%4,58) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu (tablo 4.1.).

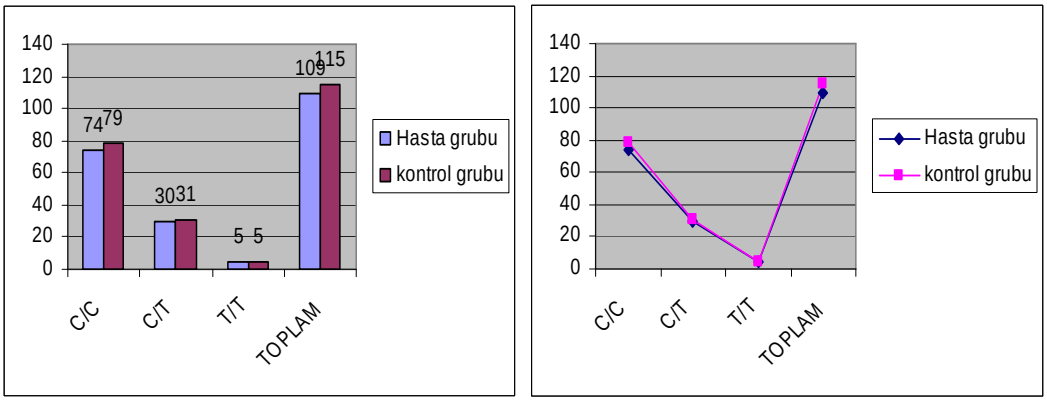
Tablo-4.1: **AAA hastalarında IL-4 gen polimorfizmi**

Hastalar	**IL-4 polimorfizmi**
Erkek: 44	**C/C 74 hasta (%67,88)**
Kadın: 65	**C/T 30 hasta (%27,52)**
Toplam: 109	**T/T 5 hasta (%4,58)**

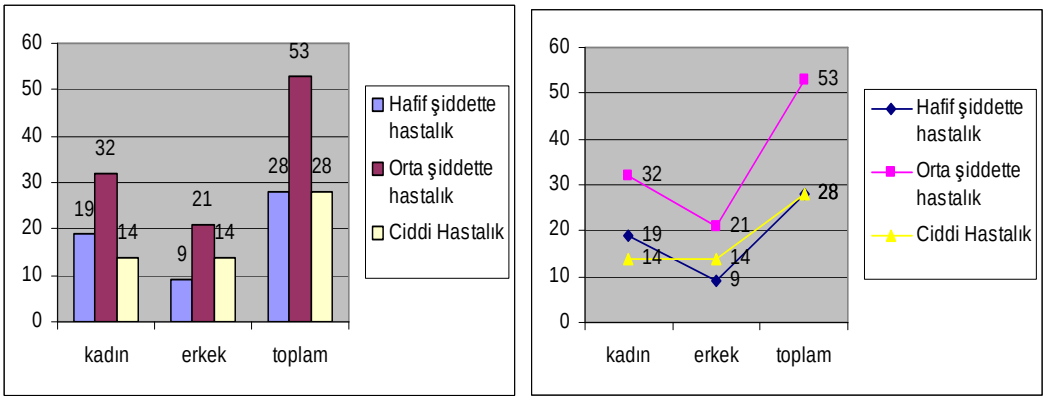
Çalışmaya katılan 115 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubundan 49'u erkek (%42,60), 66'sı (%57,40) kadındı (tablo-4.2.). Sağlıklı bireylerin yaş dağılımı 18-41 yaş arasındaydı.115 sağlıklı bireyin 79'unda (%68,69) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 31'inde (%26,95) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5'inde (%4,34) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu. Bu sonuçlarla hasta ve kontrol grubunda ki kare testiyle yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). (Şekil-4.1.)

Tablo-4.2: Kontrol grubu hastalarında IL-4 gen polimorfizmi

Kontrol grubu	**IL-4 polimorfizmi**
Erkek: 49	**C/C 79 hasta (%68,69)**
Kadın: 66	**C/T 31 hasta (%26,95)**
Toplam: 115	**T/T 5 hasta (%4,34)**



Şekil-4.1:Hasta ve kontrol gruplarındaki IL-4 gen polimorfizmleri



Şekil-4.2: Hastalık şiddetine göre hastaların dağılımı

Hastalar AAA'nin başlangıç yaşları, kolşisin öncesi ve sonrası aylık atak sayısı, artrit varlığı, erizipel varlığı, amiloidoz varlığı, kolşisin kullanım dozu dikkate alınarak Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık ciddiyeti skorlamasına göre skorlandırıldı(40,50). 5 puanın altında hafif skor, 6-8 puan arası orta skor, 9 puanın üzeri ciddi skor olarak değerlendirildi. Hastalık ciddiyetine göre 28 hasta hafif AAA skorunda, 53 hasta orta ve 28 hasta da ciddi AAA skorundaydı (tablo-4.3, 4.4, 4.5, şekil-4.2). Hafif AAA skoru olan 28 hastanın 9'u erkek (%32,14), 19'u ise kadındı (%67,85). Hafif AAA skoru olan 28 hastanın 19'unda (%67,8) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 8 hastada (%28,57)C/T IL-4 gen polimorfizmi, 1 hastada (%3,57) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu(tablo4.3.).

Tablo-4.3: Hafif AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri

IL-4 gen polimorfizmi		Hafif şiddette hastalar	Toplam	%
C/C	Top	19	74	25,67
	K	12	41	29,26
	E	7	33	21,21
C/T	Top	8	30	28,57
	K	6	19	31,57
	E	2	11	18,18
T/T	Top	1	5	20,00
	K	1	5	20,00
	E	0	0	0
Toplam	Top	28	109	25,68
	K	19	65	29,23
	E	9	44	20,45

Orta AAA skoru olan 53 hastanın 21'i (%39,62) erkek, 32'si (%60,37) kadındı. Orta AAA skoru olan 53 hastanın 36'sında (%67,92) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 14 hastada (%26,41) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 3 hastada (%5,66) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu (tablo-4.4).

Tablo-4.4: Orta AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri

IL-4 gen polimorfizmi		Orta şiddette hastalar	Toplam	%
C/C	Top	36	74	67,92
	K	19	41	46,34
	E	17	33	51,51
C/T	Top	14	30	26,41
	K	9	19	47,36
	E	5	11	45,45
T/T	Top	3	5	60,00
	K	3	5	60,00
	E	0	0	0
Toplam	Top	53	109	48,62
	K	31	65	47,69
	E	22	44	50,00

Ciddi AAA skoru olan 28 hastanın 14'ü (%50) erkek, 14'ü (%50) de kadındı. Ciddi AAA skoru olan 28 hastanın 19'unda (%67,85) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 8 hastada (%28,57) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 1 hastada ise (%3,57) T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu (tablo4.5.).

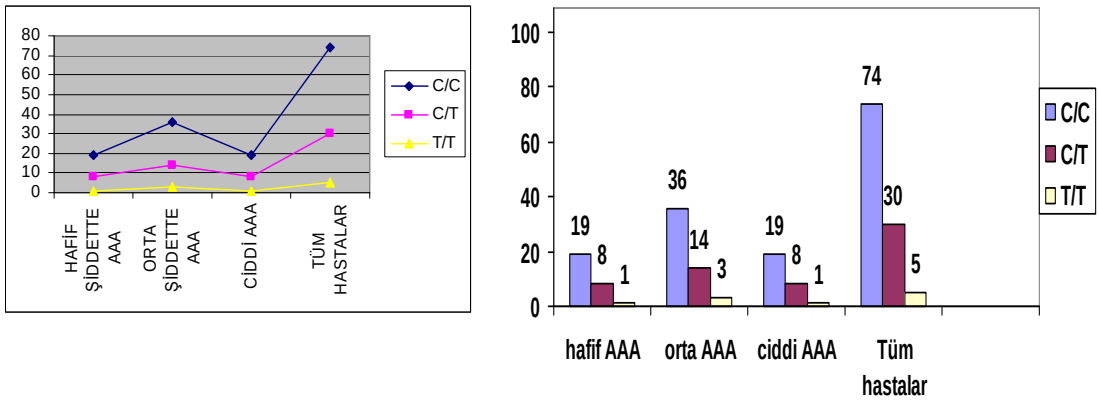
Tablo-4.5: Ciddi AAA skoru olan hastaların IL-4 gen polimorfizmleri

IL-4 gen polimorfizmi		Ciddi hastalar	Toplam	%
C/C	Top	19	74	67,85
	K	10	41	24,39
	E	9	33	27,27
C/T	Top	8	30	28,57
	K	4	19	21,05
	E	4	11	36,36
T/T	Top	1	5	3,57
	K	1	5	20,00
	E	0	0	0
Toplam	Top	28	109	25,68
	K	15	65	23,07
	E	13	44	29,54

Hafif, orta ve ciddi AAA skoru olan hasta grupları IL-4 gen polimorfizmi açısından birbirleriyle karşılaştırıldı. Ki kare testiyle yapılan karşılaştırmalı değerlendirmede gruplar arasında IL-4 gen polimorfizmi açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı gözlendi ($p>0.05$). (Şekil-4.3.).

Tablo-4.6: Hastalarımızdaki IL-4 gen polimorfizminin hastalık şiddetine göre dağılımı

IL-4 gen polimorfizmi		Hafif şiddette hastalar	Orta şiddette hastalar	Ciddi hastalar	Toplam n	%
C/C	Top	19	36	19	74	%67,8
	K	12	19	10	41	%55,4
	E	7	17	9	33	%44,6
C/T	Top	8	14	8	30	%27,52
	K	6	9	4	19	%63,33
	E	2	5	4	11	%36,66
T/T	Top	1	3	1	5	%4,58
	K	1	3	1	5	%100
	E	0	0	0	0	%0
Toplam	Top	28	53	28	109	%100
	K	19	31	15	65	%59,63
	E	9	22	13	44	%40,36

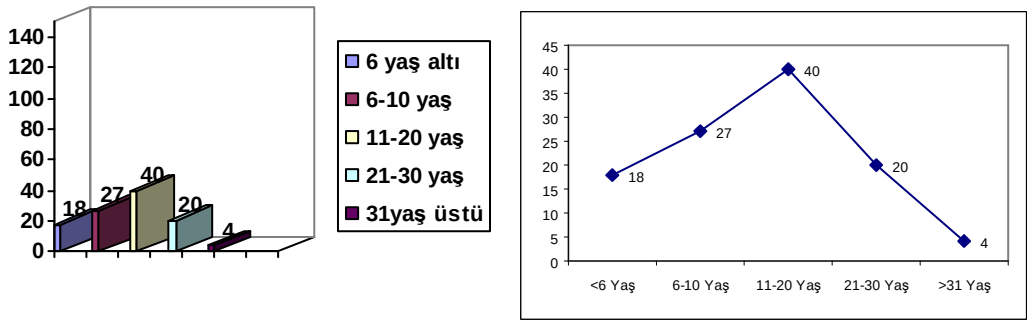


Şekil-4.3:AAA hastalık ciddiyeti skorlamasına göre IL-4 gen polimorfizmin birlikte değerlendirilmesi

Hastalığın başlangıç yaşına göre hastalar 5 gruba ayrıldılar ve hastalık şiddet skorlamasına göre puanlandırıldılar. 6 yaş altında 18 hasta (%16,51), 6-10 yaş arasında 27 hasta (%24,47), 11-20 yaş arasında 40 hasta (%36,69), 21-31 yaş arasında 20 hasta (%18,34) ve 31 yaş üstünde 4 hasta (%3,66) vardı (tablo-4.7, şekil-4.4). Başlangıç yaşına göre hastalar puanlandırıldı. Hastalık başlangıç yaşı 6'nın altında olanlara 4 puan, 6-10 yaş arasında olanlara 3 puan, 11-20 yaş arasında olanlara 2 puan, 21-31 yaş arasında olanlara 1 puan ve 31 yaş üstünde olanlara 0 puan verildi.

Tablo-4.7: Başlangıç AAA yaşına göre hastaların değerlendirilmesi

Yaş	Hasta sayısı
6 yaş altında	**18 (%16,51)**
6-10 yaş	**27 (%24,47)**
11-20 yaş	**40 (%36,69)**
21-31 yaş	**20 (%18,34)**
31 yaş üstünde	**4 (%3,66)**
Toplam hasta	**109**

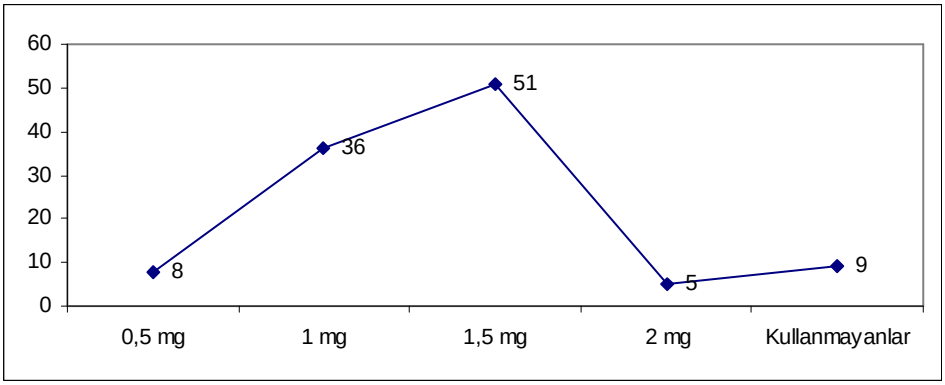


Şekil-4.4: : Başlangıç AAA yaşına göre hastaların değerlendirilmesi

Çalışmaya katılan 109 hastadan 100'ü kolşisin kullanmaktaydı (%91,74). Bunlardan 8 hasta (%7,33) 0,5mg, 36 hasta (%33,02) 1mg, 51 hasta (46,78) 1,5mg, 5 hasta (4,58) 2mg kolşisin kullanmaktaydı. 9 hasta (%8,25) ise kolşisin kullanmamaktaydı (tablo-4.8, şekil-4.5). Kullanmamalarının sebebi de yeni tanı konmuş hastalar olmalarıydı.

Tablo-4.8: AAA'lı hastalarda kullanılan kolşisin dozu

Kolşisin dozu	Hasta sayısı
0,5mg kolşisin kullananlar	8 (%7,33)
1mg kolşisin kullananlar	36 (%33,02)
1,5mg kolşisin kullananlar	51 (%46,78)
2mg kolşisin kullananlar	5 (%4,58)
Kolşisin kullanmayanlar	9 (%8,25)
Toplam	109



Şekil-4.5: AAA'lı hastalarda kullanılan kolşisin dozu

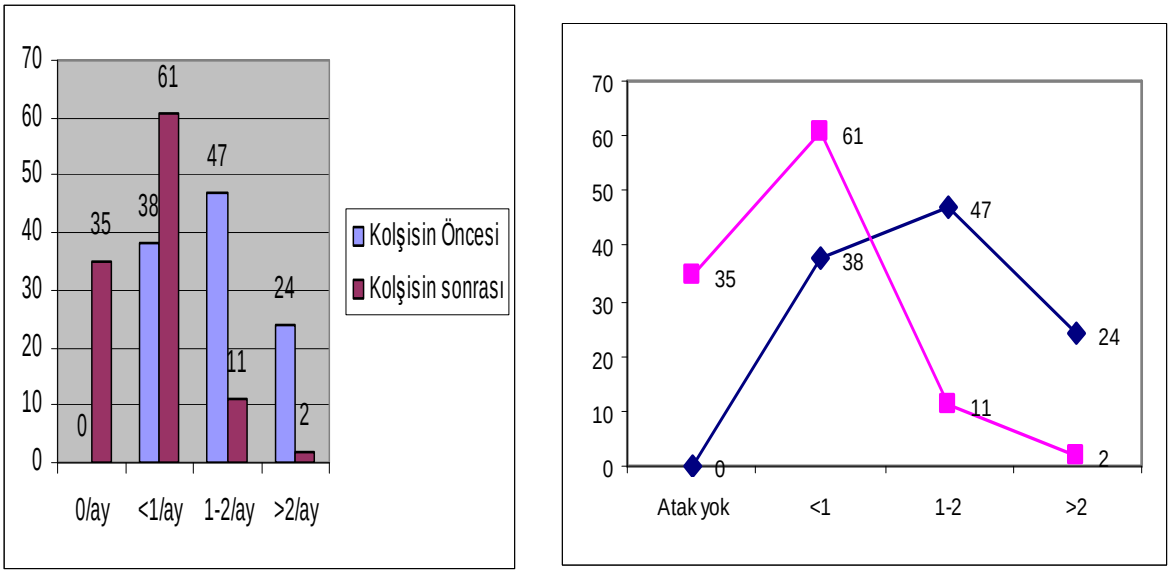
:

Kolşisin kullanım öncesi 38 hastada (%34,86) aylık atak sayısı 1'in altında, 47 hastada (%43,11) aylık atak sayısı 1-2 arasında, 24 hastada (%22,01) ise aylık atak sayısı 2'nin üstündeydi (tablo-4.8, şekil-4.4). Kolşisin kullanım sonrası ise 35 hastada (%32,11) aylık atak sayısı sıfırdı. 61 hastada (55,96) aylık atak sayısı 1'in altında, 11 hastada (%10,09) aylık atak sayısı 1-2 arası, 2 hastada (%1,83) ise aylık atak sayısı 2'nin üzerindeydi (tablo-4.9, şekil-4.6.). Bu sonuçlar da kolşisin tedavisinin AAA hastalığındaki etkinliğini göstermektedir.

AAA hastaları aylık atak sayısına göre puanlandırıldı. Aylık atak sayısı 0 olanlara 0 puan, aylık atak sayısı 1'in altında olanlara 1 puan, aylık atak sayısı 1-2 arasında olanlara 2 puan, aylık atak sayısı 2'nin üzerinde olanlara 3 puan verildi.

Tablo-4.9: AAA'lı hastalarda kolşisin kullanım öncesi ve sonrası aylık atak sayısı

Atak sayısı/ay	Hasta sayısı (Kolşisin öncesi)	Hasta sayısı (Kolşisin sonrası)
Atak yok	0 (%0)	35 (%32,11)
1'in altında	38 (%34,86)	61 (%55,96)
1-2 arası	47 (%43,11)	11 (%10,09)
2'nin üstünde	24 (%22,01)	2 (%1,83)
Toplam	109	109



-Kolşisin Sonrası Atak

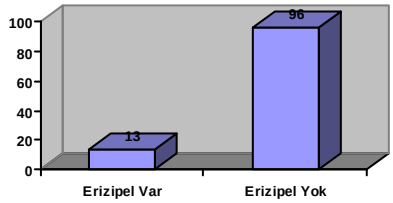
-Kolşisin Öncesi Atak

Şekil-4.6: AAA'lı hastalarda kolşisin kullanım öncesi ve sonrası aylık atak sayısı

Çalışmaya katılan 109 hastanın 13'ünde (%11,92) erizipel benzeri eritem saptandı (tablo-4.10,şekil-4.7.). Erizipel benzeri eritem varlığına göre hastalar puanlandırıldı. Erizipel benzeri eritemi olanlara 2 puan, olmayanlara ise 0 puan verildi.

Tablo-4.10: AAA'lı hastalarda erizipel varlığı

Erizipel varlığı	**Hasta sayısı**
Erizipel var	**13 (%11,92)**
Erizipel yok	**96 (%88,08)**
Toplam	**109**

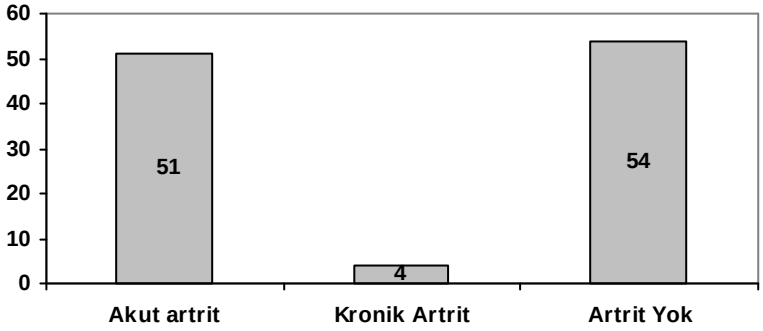


Şekil-4.7: AAA'lı hastalarda erizipel varlığı

Çalışmaya katılan 109 hastanın 55'inde (%50,45) artrit mevcuttu. 55 hastanın 51'inde (%92,74) akut artrit, 4'ünde (%7,27) ise kronik artrit mevcuttu (tablo-4.11,şekil-4.8.). Artrit varlığına göre hastalar puanlandırıldı. Artriti olmayanlara 0 puan, akut artriti olanlara 2 puan, kronik artriti olanlara ise 3 puan verildi.

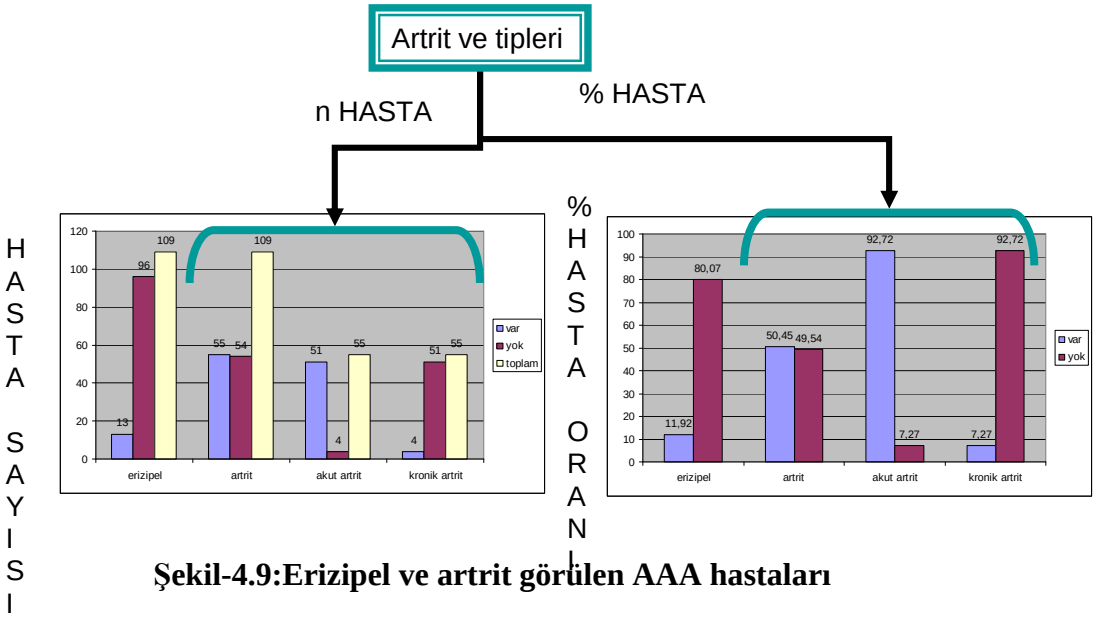
Tablo-4.11: AAA'lı hastalarda artrit varlığı

Artrit varlığı	**Hasta sayısı**
Artrit	**55 (%50,45)**
Akut artrit	**51 (%92,74)**
Kronik artrit	**4 (% 7,27)**
Artrit yok	**54 (%49,55)**
Toplam	**109**



Şekil-4.8: AAA'lı hastalarda artrit varlığı

Erizipel ve Artrit görülen AAA hastalarımız



Şekil-4.9:Erizipel ve artrit görülen AAA hastaları

Çalışmaya katılan 109 hastanın 24'ünde (%22,01) amiloidoz mevcuttu (tablo-4.12, şekil-4.9.). Bunlardan 11'i (%45,83) erkek, 13'ü de (%54,16) kadındı. Amiloidoz varlığına göre hastalar puanlandırıldı. Amiloidoz olmayanlara 0 puan, amiloidoz olanlara 3 puan verildi. Bunlardan 16 hastada (%66,66) C/C IL-4

polimorfizmi, 7 hastada (%29,16) C/T IL-4 polimorfizmi, 1 hastada (%4,16) ise T/T IL-4 polimorfizmi mevcuttu. Amiloidozu olan ve olmayan hastalar IL-4 polimorfizmi açısından 2 grupta toplandı. Ki kare testiyle yapılan değerlendirmede IL-4 polimorfizmi açısından amiloidozu olan ve olmayan AAA hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). Ancak amiloidozlu hasta sayımız çok azdı.

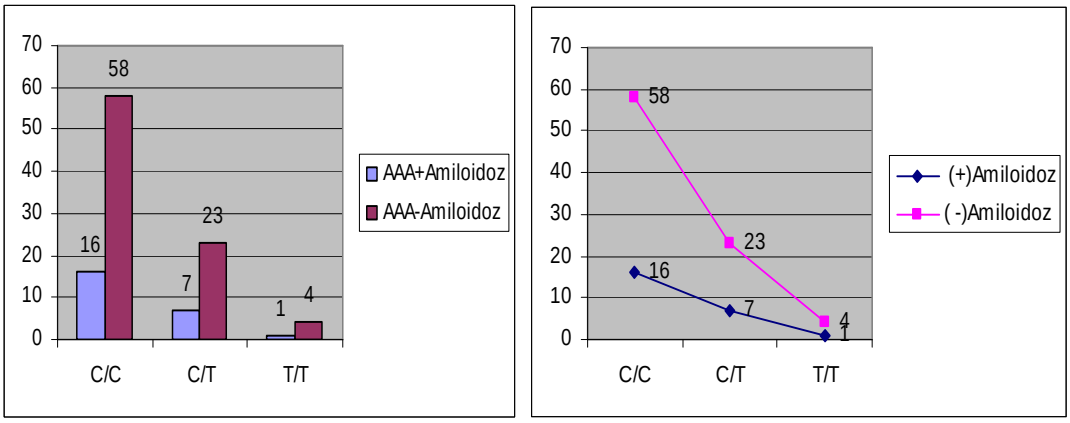
Tablo-4.12: AAA tanısı olup da amiloidoz varlığı olan hastalar

IL-4 gen polimorfizmi		**Amiloidoz (+)**		**Amiloidoz (-)**		**Toplam**
		n	**%**	**n**	**%**	**n**
C/C	**Top**	**16**	**21,62**	**58**	**78,37**	**74**
	K	**8**	**50,00**	**33**	**56,89**	**41**
	E	**8**	**50,00**	**25**	**43,11**	**33**
C/T	**Top**	**7**	**29,16**	**23**	**76,66**	**30**
	K	**4**	**57,14**	**15**	**65,21**	**19**
	E	**3**	**42,86**	**8**	**34,79**	**11**
T/T	**Top**	**1**	**4,16**	**4**	**80**	**5**
	K	**1**	**100**	**4**	**100**	**5**
	E	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Toplam	**Top**	**24**	**22,01**	**85**	**77,98**	**109**
	K	**13**	**54,16**	**52**	**61,17**	**65**
	E	**11**	**45,84**	**33**	**38,83**	**44**

Ciddi AAA skoru olan 28 hastanın 14'ünde (%50) amiloidoz mevcuttu.

Orta AAA skoru olan 53 hastanın 11'inde (%20,75) amiloidoz mevcuttu.

Hafif AAA skoru olan 28 hastanın hiçbirinde amiloidoz yoktu.



Şekil-4.10: AAA tanısı olup da amiloidoz olan ve olmayan hastalarda IL-4 gen polimorfizmi

5. TARTIŞMA

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA-FMF), çoğu kez ateş ile birlikte olan periton, sinovyum, plevra ve nadiren de perikardın tutulduğu, 12 ila 96 saat süren, kendi kendine iyileşen akut inflamasyon atakları ile ortaya çıkan, otozomal resesif geçişli ve etnik kökenli bir hastalıktır(24,31,35,60). Ataklar değişen aralıklar ile yineler ve hastalık yaşam boyu sürer. Kolşisin ile tedavi edilmediği takdirde, bazı hastalarda böbrek yetmezliği ve diğer organ hasarı ile sonuçlanabilecek yaygın amiloidoz gelişebilir. Prognozu belirleyen en önemli komplikasyon sekonder amiloidozun gelişmesidir.

Kolşisinin 1972 yılında AAA tedavisinde kullanılmaya başlamasına kadar, tedavide birçok ilaç denenmiş ve hiçbirisi yararlı olmamıştır. Krizler esnasında verilen kolşisinin başarısızlığına mukabil profilaktik olarak hastaların ortalama %90'da iyi ya da çok iyi sonuçlar alındığı bir gerçektir. Bitkisel kökenli bir fenantren derivesi olan kolşisin, mitozu metafazda keserek hücre bölünmesini durdurur. AAA'indeki etkisinin ise tam olarak bilinmemesine karşın, lizozomal degranülasyonu engellemek ve hücre duvarını stabilize etmek yolu ile olduğu sanılmaktadır. Ayrıca, kryopyrin ve pyrin sentezi üzerine de etkileri mevcuttur. Bir diğer önemli etkisi ise akut faz proteinlerinden serum amiloid A düzeyini baskılamasıdır(68). Günlük 1-2mg kolşisin kullanımının etkinliği, 1974'te Zemer ve arkadaşlarının yaptığı çift-kör bağımsız randomize bir çalışmayla gösterilmiştir(38). Kolşisin, atakların gelmesini engellediği, amiloidoz gelişimini önleyen etkili bir ilaçtır. İsrail'de yapılan prospektif bir çalışmada, amiloidi olmayan 960 olgudan, 11 yıl boyunca günlük kolşisin tedavisine düzenli olarak uyan 906 hastanın %2'sinde amiloidoz gelişirken, 9 yıldan fazla süre kolşisin almayan 54 hastanın %49'unda amiloidoz geliştiği bildirilmiştir(20). Özer ve arkadaşları kolşisin kullanmadan önce AAA'lıların %60'ında amiloidoz gelişirken, kolşisin kullanımı ile birlikte bu oranın %3'lere düştüğünü göstermişlerdir(47). Kolşisinin sürekli günlük olarak uygulanmasının aralıklı uygulanmasına göre amiloidozun önlenmesinde daha etkili olduğu bildirilmektedir. Kolşisinin tüm yaşam boyunca kullanılması zorunludur. Tedaviye ara verilir verilmez ataklar yeniden başlamaktadır. Kolşisin AAA'ya bağlı

amiloidoz gelişimini önlemede etkili olduğu kadar, ağır proteinürisi olan hastalarda bile böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı yavaşlatmaktadır. Çalışmamızda, kolşisin kullanım öncesi 38 hastada (%34,86) aylık atak sayısı 1'in altında, 47 hastada (%43,11) aylık atak sayısı 1-2 arasında, 24 hastada (%22,01) ise aylık atak sayısı 2'nin üstündeydi. Kolşisin kullanım sonrası ise 35 hastada (%32,11) hiç aylık atak gelişmedi. 61 hastada (55,96) aylık atak sayısı 1'in altında, 11 hastada (%10,09) aylık atak sayısı 1-2 arası, 2 hastada (%1,83) ise aylık atak sayısı 2'nin üzerindeydi. Bizim sonuçlarımız da, kolşisinin AAA'ndeki etkinliğini göstermektedir. Ayrıca çalışmamıza katılan 109 AAA hastasının sadece 24'ünde (%22,01) amiloidoz gelişmesi de kolşisinin atakların önlemenin yanısıra, amiloidoz gelişimini önleyen etkili bir ilaç olduğunu da göstermektedir.

IL-4 B lenfositler ve monositler üzerinde IgE'nin düşük afiniteli reseptörünün (CD23) belirginleşmesini arttırır. Makrofajların tümör hücrelerine karşı sitotoksisitesini, parazitlere karşı etkinliğini, C2 proteini ve doku plazminojen aktivatör yapımı üzerine uyarıcı etkisini arttırır. IL-4'ün bu özelliklerinden başka antikoagülan etki de oluşturduğu gösterilmiştir(7). IL-4 IgE yapımı ve naif CD4+ yardımcı T hücrelerinden Th2 hücrelerinin gelişimi için en önemli uyarıcıdır. Th2 sitokinlerinden biri olan IL-4, eozinofil matürasyonu ve migrasyonunda rol oynamaktadır. IL-4'ün hava yolu eozinofilisini düzenlediği bildirilmiştir ve senzitizasyon sırasında anti-IL-4 ile tedavi edilen farelerde eozinofili ve Th2 lenfositlerden sentezlenen sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir(32).

Aypar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AAA'da enflamasyonun karakterini belirlemek amacıyla hastalığın patogenezinde rolü olduğu düşünülen yardımcı T hücre alt grupları; Th1 ve Th2 hücreleri değerlendirilmiştir.. IL-4 pozitif T hücre yüzdelerinde, gruplar arasında fark saptanmazken, atak döneminde değerlendirilen hastaların IFN-gamma pozitif T hücre yüzdeleri, asemptomatik dönemde değerlendirilen hastalara ve kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. MEFV mutasyonu için heterozigot olan bireylerde belirlenen IFN-gamma pozitif T hücre yüzdeleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış ve bu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (5).

Sekonder amiloidoz gelişmiş AAA hastalarında ortalama IFN-gamma pozitif hücre yüzdesi en yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada, ilk defa, AAA'da görülen enflamatuvar yanıtın Th1 hücre tipinde olduğu gösterilmiştir. AAA hastalarında, yetersiz pirin işlevinin, Th1 hücrelerinin oluşturduğu enflamasyonu baskılayamaması nedeniyle IFN-gamma pozitif T hücre yüzdelerinin yüksek kaldığı ve IFN-gamma'nın MEFV geni indüksiyonu ile de hastalığın patogenezinde yer aldığı sonucuna varılmıştır(5).

Örün ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, AAA hastalarında atak ve ataksız dönemlerde akut inflamasyonda önemli rol oynayan sitokin düzeylerinin belirlenmesi ve tedavinin sitokin düzeyleri ile akut faz yanıtı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada AAA hastalarında TNF-alfa, IL-8, IL-6 ve akut faz reaktanlarının düzeyi araştırılmıştır. Klasik akut faz reaktanları (fibrinojen, sedimentasyon, CRP) kolşisin alan ve almayan hastaların akut dönemlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir. TNF-alfa, IL-6 ve IL-8 düzeyleri kolşisin tedavisinden bağımsız olarak atak ile beraber yükselmiştir. TNF-alfa sonuçları, tedavi alan grubun atak döneminde ataksız döneme göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. IL-6 ve IL-8 değerlerinde, atak ile beraber artış görülmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır(48).

Bugüne kadar romatoid artrit, allerjik hastalıklar, kolorektal kanserler ve diğer hastalıklarda IL-4 gen polimorfizminin hastalıklara olan etkisi araştırılmış, ancak AAA hastalığında IL-4 polimorfizmiyle ilişkili çalışmaya rastlanmamıştır. Oysa IL-4'ün allerjik inflamasyonda ön plana çıkan anahtar rolünün pekala AAA'nde de olma olasılığı bulunmaktadır.En azından Th1/Th2 hücreleri arasındaki dengenin hemen her inflamasyonda bir tarafın ağırlığından değiştiği bilinmektedir. Bu hücrelerin fonksiyonlarını etkileyebilecek bir polimorfizmin hastalıkların ortaya çıkması ve/veya çıkmaması hastalıkların seyri üzerinde etkilerinin olabileceği beklenmektedir. Bir başka açıdan bakarsak, Th2 hücrelerini ilgilendiren değişikliklerin AAA patogenezinde öncü rolünün bulunmadığını saptamak da ikincil hedefimiz olmuştur.

Bu bilgiler dahilinde biz de inflamasyon ataklarıyla seyreden AAA hastalarında Th2 hücrelerinin sitokini olan IL-4'ü kodlayan gendeki

polimorfizmlerinin hastalığın ortaya çıkması ve seyri üzerine olabilecek etkilerini araştırmak istedik. Bizim çalışmamızda, IL-4 gen polimorfizminin Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığının ortaya çıkması ve hastalığın seyrinde önemli değişikliklere yol açmadığını izledik. Çalışmamızda ayrıca, amiloidozu olan ve olmayan AAA hastalarında IL-4 gen polimorfizmi açısından anlamlı bir değişiklik olmadığını saptadık. Ancak bu sonucun ortaya çıkmasında amiloidozlu hasta sayısının çok az olmasının önemli bir etken olduğu kanısına vardık. Çalışmaya toplam 109 AAA hastası ve 115 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastalar AAA başlangıç yaşları, kolşisin öncesi ve sonrası aylık atak sayısı, artrit varlığı, erizipel varlığı, amiloidoz varlığı, kolşisin kullanım dozuna göre Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık ciddiyeti skorlamasına göre skorlandırılmıştır. IL-4 geninin promotor bölgesindeki –590 C/T baz değişimi ile primerler kullanılarak, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile yapılmıştır. Çalışmaya katılan 109 hastanın 74'ünde (%67,88) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 30 hastada (%27,52) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5 hastada (%4,58) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu Çalışmaya katılan 115 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubundan 79'unda (%68,69) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 31'inde (%26,95) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5'inde (%4,34) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu. Bu sonuçlarla hasta ve kontrol grubunda ki kare testiyle yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Çalışmamızda ayrıca, amiloidozu olan ve olmayan hastalar IL-4 polimorfizmi açısından 2 grupta toplandı. Ki kare testiyle yapılan değerlendirmede IL-4 polimorfizmi açısından amiloidozu olan ve olmayan AAA hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Ancak amiloidozlu hasta sayımız çok azdı.

Ciddi AAA skoru olan 28 hastanın 14'ünde (%50) amiloidoz mevcuttu.

Orta AAA skoru olan 53 hastanın 11'inde (%20,75) amiloidoz mevcuttu.

Hafif AAA skoru olan 28 hastanın hiçbirinde amiloidoz yoktu.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, belki de hastalığın ve komplikasyonlarının takiplerinde yeni bir pencere açabilir.

Her şeye rağmen dünya literatüründe AAA hastalığında IL-4 gen polimorfizminin hastalığın seyri üzerindeki etkisi anlamında yapılan ilk çalışma olması açısından değerli ve yol gösterici bir çalışma olduğunu düşünüyoruz. Ancak konu üzerinde daha fazla çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda Ailevi Akdeniz Ateşi'nde (AAA) IL-4 gen polimorfizminin hastalığın seyrine olan etkisini araştırdık. Çalışmanın sonucunda, IL-4 gen polimorfizminin Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığının seyrinde önemli değişikliklere yol açmadığını izledik. Çalışmamızda ayrıca, amiloidozu olan ve olmayan AAA hastalarında IL-4 gen polimorfizmi açısından anlamlı bir değişiklik olmadığını saptadık. Ancak bu sonucun ortaya çıkmasında amiloidozlu hasta sayısının çok az olmasının önemli bir etken olduğu kanısına vardık. Her şeye rağmen dünya literatüründe AAA hastalığında IL-4 gen polimorfizminin hastalığın seyri üzerindeki etkisi anlamında yapılan ilk çalışma olması açısından değerli ve yol gösterici bir çalışma olduğunu düşündük Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular belki de hastalığın ve komplikasyonlarının kontrol altına alınmasında yeni bir pencere açabilir. Bu konu üzerinde daha fazla çalışmalara gereksinimin olduğunu düşünüyoruz.

ÖZET

Karaca, E., Ailevi Akdeniz Ateşi'nde İnterlökin-4 gen polimorfizminin hastalığın seyrine olan etkisi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Tezi, Ankara, 2008.

IL-4 IgE yapımı ve naif CD4+ yardımcı T hücrelerinden Th2 hücrelerinin gelişimi için en önemli uyarıcıdır. Th2 alt grubunda CD4+ yardımcı T hücreleri ve aktive mast hücreleri tarafından sentezlenir. En önemli görevi B hücrelerinin, IgE sentezleyen B hücresine dönüşmesini sağlamaktır. Bu çalışmada Ailevi Akdeniz Ateşi'nde (AAA) IL-4 gen polimorfizminin hastalığın seyrine olan etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın önemi, bu çalışmaya benzer bir çalışmanın literatürde bulunmamasıdır. Çalışmaya toplam 109 AAA hastası ve 115 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastalar AAA başlangıç yaşları, kolşisin öncesi ve sonrası aylık atak sayısı, artrit varlığı, erizipel varlığı, amiloidoz varlığı, kolşisin kullanım dozuna göre Pras ve arkadaşlarının geliştirdiği hastalık ciddiyeti skorlamasına göre skorlandırılmıştır. IL-4 geninin promotor bölgesindeki –590 C/T baz değişimini incelemek üzere primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapılmıştır. Çalışmaya katılan 109 hastanın 74'ünde (%67,88) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 30 hastada (%27,52) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5 hastada (%4,58) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu Çalışmaya katılan 115 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubundan 79'unda (%68,69) C/C IL-4 gen polimorfizmi, 31'inde (%26,95) C/T IL-4 gen polimorfizmi, 5'inde (%4,34) ise T/T IL-4 gen polimorfizmi mevcuttu. Bu sonuçlarla hasta ve kontrol grubunda ki kare testiyle yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Çalışmamızda ayrıca, amiloidozu olan ve olmayan hastalar IL-4 polimorfizmi açısından 2 grupta toplandı. Ki kare testiyle yapılan değerlendirmede IL-4 polimorfizmi açısından amiloidozu olan ve olmayan AAA hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Ancak amiloidozlu hasta sayımız çok azdı. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların belki de hastalığın ve komplikasyonlarının kontrol altına alınmasında yeni bir pencere açabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Sözcükler: interlökin-4, Ailevi Akdeniz Ateşi, amiloidoz, gen polimorfizmi, polimeraz zincir reaksiyonu

SUMMARY

The effect of Interleukin-4 gene polymorphism on the prognosis of Famial Mediterrenean Fever Ankara University, Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine 2008. IL-4 is the most important stimulant of IgE synthesis and induces differentiation of naive helper T cells to Th2 cells. IL-4 is produced by Th2 cell, subgroup of CD4 expressing T helper cells and activated mast cells. The most important function of IL-4 is to induce IL-4 induces B-cell class switching to IgE. The aim of this study was to evaluate the effect of IL-4 gene polymorphism on the prognosis of Famial Mediterrenean Fever (FMF). There is no studies about relationship of IL 4 gene polymorphism and FMF.. A total of 109 FMF patients and 115 control subjects were enrolled in this study. Age of onset of FMF, arthritis, erysipels-like erythema, edema, amyloidosis, number of attacks per year before and after treatment are also noted and a severity score is calculted with a formula which is developed by Pras et al. Assesment of -590 C/T base substition in the promoter of IL-4 was made with polymerase chain reaction (PCR). 74 (%67,88) of 109 patients were genotyped C/C gene polymorphism, 30 patients were genotyped C/T IL-4 gene polymorphism and 5 patients were genotyped T/T IL-4 gene polymorphism. 79 of 115 control subjects were genotyped C/C IL-4 gene polymorphism, 31 subjects were genotyped C/T IL-4 gene polymorphism, 5 subjects were genotyped T/T IL-4 gene polymorphism. No statistically significant differences were observed in genotype between patients and control subjects ($p>0.05$). there was no statistically significant difference in genotype between patıients with and without amyloidosis ($p>0.05$) but there was few patients with amyloidosis. In conclusion findings of this study can be cornerstone for further studies. **.**

Key Words: Interleukin 4**,** Famial Mediterrenean Fever, amyloidosis, gene polymorphism, polymerase chain reaction

KAYNAKLAR

1- Abrevaya Marmaralı. Garip bir karın ağrı sendromu. *Türk Tıp Cem Mecm No:12,1946.*

2- Albanesi C, Fairchild HR, Madonna S, Scarponi C, De Pita O, Leung DY, Howell MD. IL-4 and IL-13 negatively regulate TNF-alpha-and IFN-gamma-induced beta-defensin expression through STAT-6, suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1, and SOCS-3. *J Immunol. 200715;179(2):984-92*

3- Au-Yeung BB, Fowell DJ. A key role for ltk in both IFN gamma and IL-4 production by NKT cells. *J Immunol 2007;179(1):111-119*

4- Aypar E, Ozen S, Okur H, Kutluk T, Besbas N, Bakkaloglu A. Th1 polarization in familial Mediterranean fever. *J Rheumatol. 2003;30(9):2011-3*

5- Aypar E. Ailevi Akdeniz Ateşi hastalarında Th1 ve Th2 yardımcı T hücre alt gruplarının hücreiçi interferon-gamma (IFN-y) ve interlökin-4 (IL-4)'ün sitokin boyama yöntemi ile belirlenmesi. *HÜTF, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi.2002*

6- Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. Adezyon molekülleri. *T Klin J Med Sci 1996;16:14-22*

7-- Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. Interleukins. *T Klin J Med Sci 1998;18(1):77-84*

8- Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranen fever. *Lancet 1998;351:659-64*

9- Booth DR, Gillmore JD, Booth SE, Pepys MB, Hawkins PN. Pyrin/marenostrin mutations in familial Mediterranean fever. *Q J Med. 1998;91:603-606*

10 C.Bogdan and C. Nathan. Modulation of macrophage function by transforming growth factor beta, interleukin-4, and interleukin-10. *Ann N Y Acad Sci. 1993;685:713*

11- D.L. Kastner. Hereditary Periodic Fever Syndromes. *Hematology 2005;2005(1):74-81*

12- Centola M, Wood G, Frucht D.M, Galon C, Aringer M, Farrel C, and D.L. Kastner. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood. 2000;95:3223-3231*

13- Davtyan TK, Hakopyan GS, Avetisyan SA, Mkrtchyan NR. IMpaired endotoxin tolerance induction in patients with familial Mediterranean fever. *Pathobiology 2006;73(1):26-39*

14- Dinarello CA, Chussid MJ, Fauci AS, Ghallin JI, Dale DC, Wolff SM. Effect of prophylactic colchicine therapy on leukocyte function in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum. 1976;19:618-622*

15- Drenth JP, van der Meer JW. Hereditary periodic fever. *N Eng J Med. 2001;345:1748-1757*

16- E Rabinovich, A Livneh, P Langevitz, N Brezniak, E Shinar, M Pras, and Y Shinar. Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. *Ann Rheum Dis, 2005;64(7):1009-1014*

17- E.Mansfield,J.J. Chae, H.D. Komarow, T.M. Brotz, D.M. Frucht, I.Aksentijevich, and D.L. Kastner. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments. *Blood,2001;98(3):851-859*

18- Elliot K, Fitzpatrick E, Hill d, Brown J, Adams S, Chee P, et al. The -590C/T and -34C/T interleukin-4 promoter polymorhisms are not associated with atopic eczema in childhood. *J Allergy Clin Immunol 2001,108:285-287*

19- French AT, Bethune JA, Knight PA, McNeilly TN, Wattegedera S, Rhind S, Miller HR, Pemberton AD. The expression of intelectin in sheep goblet cells and upregulation by interleukin-4. *Vet Immunol Immunopathol 2007;120:41-46*

20- Gang N, Drenth J.P.H, Livneh A, Langevitz P. Activation of the cytokine network in familial Mediterranean fever. In *1st International conferrence on familial Mediterranean fever. Jerusalem-ısrael, 7-11 september 1997*

21- Gershoni-Barush R, Shinawi M, Leah K, Badarnah K, Brik R. Familial Mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *Eur J Hum Genet. 2001;9:634-637*

22- Geurts J, Arntz OJ, Bennink MB, Joosten LA, van den Berg WB, van de Loo FA. Application of a disease-regulated promoter is a safer mode of local IL-4 gene therapy for arthritis. *Gene Ther. 2007;14:1632-1638*

23--Goldfinger SI. Colchicine for familial Mediterranean fever. *N Eng J Med 1972;287:1302*

24- Gürler İliçin. İç Hastalıkları 2.baskı. *2003; 2779-2784.* Bölüm15. Kas iskelet ve kollajen doku hastalıkları

25- Heller h, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean fever. *Arch Int.Med 1958;102;50.*

26--Inoue A, Yasuda T, Yamamoto T, Yamanashi Y. Dok-1is a positive regulator of IL-4 signalling and IgE response. *J Biochem 2007;142(2):257-263*

27--Isidoro-Garcia M, Davila I, Laffond E, Moreno E, Gonzalez E. Interleukin-4 (IL-4) and interleukin-4 receptor (IL4RA) polymorphisms in asthma: a case control study. *Clin and Mol Allergy 2005; 3:15*

28- Kara N, Keles GC, Sumer P, Gunes SO, Bagci H, Koprulu H, Bek Y. Association of the polymorphisms in promoter and intron regions of the interleukin-4 gene with chronic periodontitis in a Turkish population. *Acta Odontol Scand. 2007;10:1-6*

29- Kees S, Langevitz P, Zemer D, et al. Attacks of pericarditis a manifestation of FMF. *Q J Med 1997;90:643-47*

30- Kelly WN et al. Textbook of rheumatology 4th ed. *Philadelphia. W.B. Saunders Chapter 13, 1992*

31- Kemalettin Büyüköztürk. İç Hastalıkları kitabı1. baskı. *2007; 302:2167-2171*

32- Kırkıl G, Muz M.H, Deveci F, Bulut H, Turgut T. Astım fare modelinde deksametazonun antiinflamatuvar etkisinin araştırılması. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2005;53(3):245-251*

33--Kiraz S, Ertenli I, Arıcı M, et al.: Effects of colchicine on inflammatory cytokines and selectins in familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol. 1998;16:721-4*

34- Korkmaz C, C.Ozdogan, Yazıcı H. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum DİS 2002;61:79-81*

35- Koşan C. Ailevi Akdeniz Ateşine tanısal yaklaşım (diagnostic aproach to familial Mediterranean fever). *AUTD 2003; 35:1-6*

36- Landi S, Bottari F, Gemignani F, Gioia Patricola L, Guino E, Osorio A, Capella G, Canzian F, Moreno V. Interleukin-4 and interleukin-4 receptor polymorphisms and colorectal cancer risk. *Eur J Cancer 2007;43(4):762-8*

37--Liddiard K, Welch JS, Lozach J, Heinz S, Glass CK, Greaves DR. Interleukin-4 induction of the CC chemokine TARC (CCL17) in murine macrophages is mediated by multiple STAT6 sites in the TARC gene promoter. *BMC Mol. Biol. 2006;7:45*

38--Livneh A, Langewitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, Pras M. Establishment of a new set of criteria for the classification of familial Mediterranean fever. *Freund, 1997;199-202*

39- 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(10):1879-1885*

40- Mamou H. La maladie periodique. *L'expansion scientifique Français. Paris. 1952;28:1061-1070*

41--Mısıroglu M, Yalcınkaya F, Akar E, Cakar N, Tumer N, Akcakus M, Tastan H, Matzner Y. MEFV mutations in Turkish patients suffering from FMF. *Human mutation 2000;15:118-119*

42- Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic function. *Ann Rev Immunol 1999, 17:701-738*

43--Nguyen CQ, Gao JH, Kim H, Saban DR, Cornelius JG, Peck AB. IL-4-STAT6 signal transduction-dependent induction of the clinical phase of Sjögren's syndrome-like disease of the nonobese diabetic Mouse. *J Immunol. 2007;179(1):382-390*

44- Ohmori Y, Hamilton TA. IL-4 induced STAT6 suppresses IFN-gamma-stimulated STAT1-dependent transcription in Mouse macrophage. *J Immunol. 1997;159:5474*

45- Ozen E. What advantage did the heterozygotes for MEFV mutations have-IF any? *Clin Exp Rheumatol 2003;17:745-9*

46--Ozen S, Saatci, Balkana F, et al. FMF and polyarteritis nodosa. *Scand J Rheumatol 1992;21:312-313*

47--Ozer FL, Kaplaman E, Zileli S. Familial Mediterranean fever in Turkey. A report of twenty case. *Am J Med. 1971;50:336-339*

48--Örün E, Yalçınkaya F, Özkaya N, Akar N, Gökçe H. FMF hastalığında akut faz yanıtı ile TNF-alfa, interlökin-8 ve interlökin-6 düzeylerinin değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.2002;55:2:123-128*

49- Philip E. Familial Mediterranean Fever in the post-genomic era: How an ancient disease is providing new insights into inflammatory pathways. *Inflammation&Allergy,2005,4,67-76*

50- Pras M, Gafhi J, Jacop E et al. Recent advances in familial Mediterranean fever. *Adv Nephrol 1984;13:261-271*

51--Riemann HA. Periodic disease. Probable syndrome including periodic fever, benign paroxysmal peritonitis, cyclic neutropenia and intermittant arthralgia. *JAMA 1948;136:239*

52- Romagnani S. Regulation of the T cell response. *Clin Exp Allergy.2006;36(11):1357-66*

53- S.Papin, P.Duquesnoy, C.Cazeneuve, J.Pantel, M.Coppey-Moisan, C.Dargemont,and S.Amselem. Alternative splicing at the MEFV locus involved in FMF regulates translocation of the marenostrin/pyrin protein to the nucleus. *Hum. Mol. Genetic.,2000;9(20): 3001-3009*

54- Sackesen C, Adalioglu G. Decreased prevalence of atopy in pediatric patients with familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis. 2004;63:187-90*

55--Sarkar S, Tesmer LA, Hindnavis V, Endres JL, Fox DA. Interleukin-17 as a molecular target in immune-mediated arthritis: Immunoregulatory properties of genetically modified murine dendritic cells that secrete interleukin-4. *Arthritis Rheum. 2006 28;56(1):89-100*

56--Shohat M,Korenberg JR, Schwabe AD, Rotter JI. Hypothesis: Familial Mediterranean fever –a genetic disorder of the lipocortin family? *Am J Med Genet. 1989;34:163*

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

58- Sohar E, Pras M, Heller J, et al. Genetics of FMF. *Arch Int Med. 1961;107:109-118*

59- Stojanov S, Kastner DL. Familial autoinflammatory sieases:genetics, pathogenesis and treatment. *Curr Opin Rheumatol. 2005;17:586-599*

60- The French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet.1997;17:2:25-31*

61--The International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene familya re likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell. 1997;90:797*

62- TUBİTAK. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerindeki etkileri. *Tr. J. of Biology 23(1999); 283-292*

63--Van der Hilst JC, Simon *A,* Drenth JP. Hereditary periodic fever and reactive amiloidosis. *Clin Exp Med.2005;5(3):87-98*

64- Vial T, Descotes J. Immune-mediated side-effects of cytokines in humans. *Toxicology. 1995;105:31*

65- Yalcınkaya F, Akar E, Cakar N. MEFV mutation analysis in Turkish FMF patients with amyloidosis. *Amyloid1999;6(4):301-302*

66--Yalcınkaya F, Ozkaya N, Turner N,et al. protracted arthritis of FMF. *Br J Rheumatol 1997;96:1228-1230*

67- Yılmaz E, Ozen S, Balci B, et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the turkish population. *Eur J Hum Genet. 2001;9:553-555*

68- Zemer D, Pras M, Sohar E, et al. Colchicine in the prevention and treatment of the amyloidosis of FMF. *N Eng J Med 1986;314:1001-5*