

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CYP3A4 VE MDR1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
KOLŞİSİN FARMAKOGENETİĞİ ÜZERİNDEKİ
ETKİNLİĞİNİN AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ TEDAVİSİNDEKİ
ROLÜ

Bio. Dilek DOĞRUEK

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

BOLU
2011

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CYP3A4 VE MDR1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN KOLŞİSİN
FARMAKOGENETİĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN AİLEVİ
AKDENİZ ATEŞİ TEDAVİSİNDEKİ ROLÜ

Bio. Dilek DOĞRUER

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Öğr. Gör. Dr. Esra TUĞ

BOLU
2011

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ONAY SAYFASI

Abant İzzet Baysal Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Dilek DOĞRUER tarafından hazırlanan ve 29/04/2011 tarihinde savunulan
“**CYP3A4 ve MDR1 Gen Polimorfizmlerinin Kolşisin Farmakogenetiği**
Üzerindeki Etkinliğinin Ailevi Akdeniz Ateşi Tedavisindeki Rolü” başlıklı bu
çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Programında Yüksek Lisans
Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı Öğr. Gör. Dr. Esra TUĞ
(Gazi Üniversitesi)

Üye Doç. Dr. Güler BUĞDAYCI
(Abant İzzet Baysal Üniversitesi)

Üye Doç. Dr. Özge UZUN
(Abant İzzet Baysal Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu’nun kararıyla
kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Serap KÖYBAŞI ŞANAL
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

En başta değerli hocam ve tez danışmanım Sn. Öğr. Gör. Dr. Esra TUĞ' a, akademik hayatımın en önemli kısmı olan yüksek lisans eğitimim süresince değerli bilgi, deneyim ve yardımlarını benden asla esirgemediği için,

Yüksek lisans eğitimimde benim için önemli bir yeri olan ve nerde ne zaman karşılaşacağım belli olmayan akademik soruları ile beni sürekli düşünmeye sevk eden değerli hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Selma DÜZENLİ GEPEĞİREMEN' e,

Çalışma hastalarımın tamamlanmasında, zaman ayırt etmeden bana her türlü özveri ve yardımlarını sunan değerli hocalarım Sn. Yrd. Doç. Dr. Cemal BES' e ve Sn. Prof. Dr. Mehmey SOY' a,

Yeni mesleğime adım attığım ilk günlerimde, her türlü anlayışı, özverisi ve desteği için değerli işverenim Sn. Ömer ŞEN' e,

İstatistik hesaplamalarında yardımlarını esirgemeyen, değerli arkadaşım Sn. Araş. Gör. Dr. Hatip AYDIN' a, her zaman yanımda olan ve benim için çok ayrı yerlere sahip değerli arkadaşlarım, Ali Osman ARSLAN' a, Ayşenur AYDOĞAR' a, ve Ali UCBEK' e, hayata dair her türlü öğüdünü dinlemekten zevk aldığım değerli abim Yrd. Doç. Dr. M. Yalçın GÜNAL' a, benden asla bıkmayan ve omuzlarımda hissettiğim sıcak iki elin sahipleri değerli arkadaşlarım Demet DEMİNER ÖZTÜRK ve İbrahim ÖZTÜRK' e,

Ve,

Bu zamana kadar asla elimi bırakmayan, her zaman her yerde varlığını hissettiğim ve hissedeceğim, evladı olmaktan her zaman gurur duyduğum ve şimdi ise nurlar içinde uyuyan güzel babam M. Şükrü DOĞRUER' e

Canım annem Fűrüzan DOĞRUER' e,

Her şeyim abim Murat DOĞRUER' e,

Sonsuz teşekkür, sevgi ve saygılarımı sunarım

Hayatın geri kalan zamanlarında kopmamak dileğimle...

Dilek DOĞRUER

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) tedavisinde bilinen en etkili terapötik ajan kolşisin' dir. Kolşisin, hastalık atak sıklığı ile şiddetini azaltmak ve sekonder amiloidoz gelişimini önlemek açısından uygulanan çift yönlü bir tedavidir. Bununla birlikte, hastaların %5-10' u tedaviye cevap vermemekte ve direnç göstermektedir. Tedaviye verilen cevabın bireyler arası farklılıklar göstermesi, ilacın farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini kontrol eden mekanizmalardaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Kolşisin farmakokinetiğindeki farklılıklar, metabolizmasında görev alan Sitokrom P450 enzim ailesi üyesi CYP3A4 ve ABCB1 transmembran proteinlerinden MDR1/P-gp genleri ile ilişki göstermektedir.

Çalışmamızda yaş ortalamaları $33,24 \pm 12,315$ olan, bir yılı aşkın süredir farklı dozlarda kolşisin tedavisi alan 78 hastanın günlük kolşisin dozları ile MEFV gen mutasyonları, hastalığın klinik bulguları, CYP3A4 ve MDR1/P-gp gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırdık. Hastaların tamamında "Restriction Fragment Length Polymorphism" (RFLP) yöntemi ile MDR1/P-gp gen polimorfizmlerinden 3435C>T polimorfizmi değerlendirildi. 48 hastada MDR1/P-gp gen polimorfizmlerinden; (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T polimorfizmleri ile, 46 hastada CYP3A4 gen polimorfizmlerinden *1B(-392A>G), *2(15713T>C), *3(23171T>C), *12(21896C>T) ve *17(15615T>C) allel spesifik primer uzaması ("Allel Specific Primer Extension", ASPE) temelli floresan sinyaller ile kantifikasyon sağlayan tam otomatize mikroarray analizörü (INFINITI™ Autogenomics, Inc., Vista, CA) kullanılarak değerlendirildi.

Sonuç olarak, çalışma grubumuzdaki hastalarda kolşisin uygulama dozu ile MEFV gen mutasyonları ve 3435C>T genotipik varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktaydı ($p=0,13$). 2x1/gün ve 3x1/gün kolşisin uygulanan hastalar arasında 2677G>T polimorfizmi yönünden anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0,032$). Hastalığın semptomları arasında bulunan artrit ile 3435C>T polimorfizmi ($p=0,04$), peritonit ile 1199G>A polimorfizmi ($p=0,010$), plörit ile 2677G>A ($p=0,029$), 15713T>C ($p=0,023$) ve 15615T>C ($p=0,02$) polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki bulunmaktaydı.

Anahtar kelimeler: Ailevi Akdeniz Ateşi, CYP3A4, Farmakogenetik, Kolşisin, MDR1/P-gp

ABSTRACT

The most efficient therapeutic agent in treatment of “Familial Mediterranean Fever” (FMF) is colchicine. Colchicine is a two-way treatment applied in preventing the development of seconder amyloidosis and decreasing the intensity of attack frequency of disease. However, 5-10% of patients respond to the treatment show resistance. The differences of the response to the treatment in each person result from the changes in control mechanisms controlling pharmacokinetic and pharmacodynamic of drug. The differences in colchicine pharmacokinetic are related to CYP3A4 which is member of Cytochrome P450 enzyme family and MDR1/P-gp which is member of ABCB1 transmembran protein family.

We searched the relationship among MEFV gene mutations of 78 patients having treatment of colchicine in different dosages during over one year, clinical findings of disease, CYP3A4 and MDR1/P-gp polymorphisms. 3435C>T polymorphism from ABCB1 gene polymorphisms was evaluated with the method of “Restriction Fragment Lenght Polymorphism” (RFLP) in whole patients. (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T polymorphisms from MDR1/P-gp gene polymorphisms in 48 patients and 1B(-392A>G), *2(15713T>C), *3(23171T>C), *12(21896C>T) and *17(15615T>C) from CYP3A4 gene polymorphisms in 46 patients were evaluated by using full automated microarray analyzer (INFINITI™ Autogenomics, Inc., Vista, CA) with the capture probes were fluorescently labeled using analyte specific primer extension, hybridized to a microarray and then scanned.

Consequently, there weren't a statistically significant correlation ($p=0,13$) between 3435C>T genotype alternatives and MEFV gene mutations with colchicine treatment dosage on patients of our group. There were a statistically significant correlation among patients treated with 3x1/day and 2x1/day colchicine dosages and 2677G>T polymorphism ($p=0.032$). Among the symptoms of the disease, there were a statistically significant correlation with arthritis and 3435C>T polymorphism ($p=0.04$), peritonitis and 1199G> A polymorphism ($p=0.01$), pleuritis with 2677G>A ($p=0.02$), 15713T>C ($p=0.02$) and 15615T>C ($p=0.02$) polymorphisms.

Keywords: Colchicine, CYP3A4, Familial Mediterranean Fever (FMF), MDR1/P-gp, Pharmacogenetics

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hereditör Peryodik Hastalıklar & Ailevi Akdeniz Ateşi	3
2.2. Epidemiyoloji	6
2.3. Klinik özellikler	7
2.4. Komplikasyonlar	9
2.5. Tetikleyici faktörler	9
2.6. İlgili hastalıklar	10
2.7. Laboratuvar bulguları	11
2.8. <i>MEFV</i> geni	12
2.9. Hastalığın şiddeti ve Fenotip / Genotip bağıntısı	16
2.10. Patogenetik hipotez (pirin/marenostrin)	16
2.11. Kolşisin	19
2.11.1. Yapısı / Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği	21
2.11.2. İlaç etkileşimleri / Toksisitesi	22
2.12. Tedavi	25
2.13. Sitokrom P450 Enzimleri / CYP450	27

2.13.1. Sitokrom P4503A4 / CYP3A4	27
2.14. ABCB1	32
2.14.1. Multi drug resistance gene (MDR1/P-gp)	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Gereç	39
3.2. Yöntem	39
3.2.1. EDTA' lı kandan DNA izolasyonu	39
3.2.2. MEFV gen analizi	39
3.2.3. PCR yöntemi ile ilgili MDR1/P-gp gen bölgelerinin eldesi	39
3.2.4. PCR ürününün %2' lik agaroz jelde görüntülenmesi için gerekli malzemenin hazırlanması	40
3.2.5. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleazlar ile kesilmesi	42
3.2.6. Agaroz jel görüntüsünün değerlendirilmesi	43
3.3. İstatistiki analiz	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
7. KAYNAKLAR	73
8. EKLER	
EK 1: Etik Kurul Onayı	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi
ATP	: Adenozin Trifosfat
ABC	: ATP Binding Cassette (ATP Bağlayıcı Kaset mekanizması)
ABCB1	: Adenosine Triphosphate-Binding Cassette Subfamily B Transporter-1 (Adenozin Trifosfat Bağlayıcı Kaset Subfamilyasının B1 Üyesi)
ASPE	: Allel specific primer extention
ASC	: Apoptosis speck complex
AhR	: Aryl hydrocarbon receptor
BCRP/MXR	: Breast Cancer Resistance Protein / Mitoxantrone Resistance Protein
Bp	: Base pair
CARD	: Caspase recruitment domain
CAR	: Constitutive androstane receptor
CMOAT	: Canalicular multiorganic anion transporter
CYP450	: Cytochrome P450
CYP3A4	: Cytochrome P4503A4
CRP	: C-reactive protein
DD	: Death domain
DED	: Death effector domain
DMC	: Demethylcolchicine
dNTP	: Deoxyribonucleotide Triphosphate
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ESR	: Eritrosit sedimentation rate
EtBr	: Ethidium Bromide
FMF	: Familial Mediterranean Fever
FCAS	: Familial Cold Autoinflammatory Syndrome
FCU	: Familial Cold Urticaris
GR	: Glucocorticoid receptor
HIDS	: Hyperimmunoglobulinemia D Syndrome
IL	: Interleukin
mRNA	: Messenger RNA

MEFV	: Mediterranean fever gene
MDR1	: Multi Drug Resistance Gene 1
MgCl ₂	: Magnesium Chloride
MICA	: Major histocompatibility complex class I chain-related gene A
MRP1	: Multi drug resistance related protein 1
MWS	: Muckle-Wells syndrome
NBD	: Nucleotide Binding Domain
N-terminal	: Amino Uç
Ng	: Nanogram
NOMID	: Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease
P-gp	: P-glycoprotein
PAPA	: Pyogenic Arthritis, Pyoderma gangrenosum, Acne
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PYD	: Pyrin domain
PXR	: Pregnan X reseptörü
µl	: Microliter
S	: Saat
SAA1	: Serum amyloid A1
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SHP	: Short heterodimerization partner
TRAPS	: TNF Receptor Associated Periodic Syndrome
TNF	: Tumor necrosis factor
TMD	: Transmembran domain
VDR	: Vitamin D receptor

ŞEKİLLER

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.8.1. 16p13.3' e lokalize MEFV gen bölgesi	13
2.8.2. MEFV gen yapısı ve protein ürünü, pirin	14
2.8.3. MEFV geninde ekzon intron geçişleri ve tüm polimorfizmleri	15
2.10.1. Pirin domeyn bölgesi bulunan proteinler apoptotik speck proteini (ASC)	18
2.10.2. Nötrofillerin kemotaktik aktivasyonu	19
2.11.1. <i>Colchicum autumnale</i>	20
2.11.2. <i>Gloriosa superba</i>	20
2.11.1.1 Kolşisin' in kimyasal konfigürasyonu	21
2.11.1.2. 2DMC, 3DMC ve 10DMC' in kimyasal konfigürasyonu	24
2.13.1.1 İnsan genomundaki akif P450 genleri	27
2.13.1.2 CYP3A4 geninin lokalizasyonu	29
2.13.1.3 Karaciğerde CYP3A4 5' -flanking bölgenin transkripsiyon faktörleri ile düzenlenmesinin şematik sunumu	30
2.13.1.4 Ksenokimyasallar ile CYP3A4 uyarımı	31
2.14.1.1 MDR1/P-gp geninin lokalizasyonu	33
2.14.1.2 P-gp' in iki boyutlu yapısı	34
3.2.6.1. 3435C>T gen bölgesinin amplikon uzunluğu jel görüntüsü	43
3.2.6.2. Üç 3435C>T genotipinin agaroz jel görüntüsü	43

TABLolar

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1.1. Herediter otoenflamatuar hastalıklardan sorumlu genler	4
2.3.1. Tel-Hashomer kriterleri	7
2.3.2. PRAS' ın Ciddiyet Skorlaması	9
2.6.1. AAA ile ilişkili hastalık sıklıkları	10
2.7.1. AAA' nin teşhis kriterleri	12
2.11.2.1. Kolşisin intoksikasyonunun klinik prezentasyonu	25
2.13.1.1. İlaç metabolizmasında yer alan insan P450 enzim polimorfizmlerinin önemi	28
3.1.1. PRAS' ın Ciddiyet Skorlaması	39
4.1. Hastaların klinik özellikleri ve istatistiksel	44
4.2. Kadın ve erkek hastalarda 3435C>T genotiplerinin dağılımları	45
4.3. Kadın ve erkek hastalarda MEFV gen mutasyonlarının dağılımları	45
4.4. Aile hikayesi varlığına göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımı	46
4.5. Aile hikayesi varlığına göre 3435C>T genotiplerinin dağılımı	46
4.6. Çalışma grubumuzda kolşisin uygulama dozuna göre 3435C>T genotiplerinin dağılımı	47
4.7. Çalışma grubumuzda kolşisin uygulama dozuna göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımı.	48
4.8. Tel-hashomer kriterlerinin MEFV gen mutasyonlarına göre dağılım tablosu	49
4.9. Hastaların klinik bulgularına göre 3435C>T genotiplerinin dağılımı	51
4.10. Hastalarımızın klinik bulgularına göre hastalığın ciddiyet skorlaması	52
4.11. Kadın ve erkek hastalarda CYP3A4 genotiplerinin dağılımları	52
4.12. Kadın ve erkek hastalarda MDR1 genotiplerinin dağılımları	53
4.13. Aile hikayesi varlığına göre MDR1 genotiplerinin dağılımı	54
4.14. Aile hikayesi varlığına göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı	55

4.15. Çalışma grubumuzda kolşisin uygulama dozuna göre MDR1 genotiplerinin dağılımı	56
4.16. Çalışma grubumuzda kolşisin uygulama dozuna göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı	57
4.17. Hastaların klinik bulgularına göre MDR1 genotiplerinin dağılımı	58
4.18. Hastaların klinik bulgularına göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı	61

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hastalara uygulanan standart ilaç tedavileri sırasında, ilaca ve ilacın dozuna karşı cevap farklılıkları geliştirildiği bilinen bir gerçektir. Kimi hastada uygulanan ilaca ve dozuna etkin cevap, düşük yan etki olurken, kimi hastada ise ilaca cevapsızlık veya toksik reaksiyonlar sonucu ölümlerle sonuçlanabilen yan etkiler görülebilmektedir. Bireyde uygulanan tedavinin etkinliği, hastanın genel sağlık durumu ile birlikte, birçok faktörü içinde barındıran çevresel etmenler ile de şekillenmektedir. Hastanın genotipik yapısının tedavi sırasında kullanılan ilacın farmakodinamiğini ve farmakokinetiğini etkilediği göz ardı edilmemesi gereken önemli bir parametredir.

Hastalara uygulanan ilaç tedavilerinin ve moleküler genetik incelemelerin bir arada yürütüldüğü bir bilim dalı olan *Farmakogenetik*, bireyin genetik yapısındaki varyasyonlara bağlı olarak ilaca verdiği yanıtta değişimleri inceler. Hastanın genetik yapısını temel aldığı için, uygulanan tedaviyi bireyselleştirir ve en doğru ilacın, en doğru dozda, en az yan etki ile kullanılmasını amaçlar.

Yapılan çalışmalar farmakogenetik testler sonucunda yapılan tedavilerin çok daha etkili ve ucuz olduğunu göstermiştir. Hastanın tedavi maliyetinin en aza indirilmesi ve tedaviden en iyi sonucun alınması gibi kazanımlar sağlar. Hastanın, yaşam kalitesini artırmanın yanı sıra hastanede yatış süresi ile mortalite oranını azaltır.

Sistemik otoenflamatuar hastalıklardan Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) ("Familial Mediterranean Fever" FMF; OMIM 249100)' nin en etkili terapötik ajanı olan kolşisin farmakolojik yararlanımı, metabolizmasında görevli ana molekülü oluşturan CYP3A4 geninin kontrolü altında olmakla birlikte, hasta bireylerin tedaviye verdikleri cevap MDR1 geninin varyasyonları ile de ilişkilendirilmektedir.

Araştırmamızda kolşisin tedavisi uygulanan AAA hastalarında CYP3A4 ve/veya MDR1 gen polimorfizmleri ile günlük kolşisin tedavi dozu arasındaki ilişkinin anlamlılığını araştırmayı ve bu gen bölgelerindeki polimorfizmlerin dağılımına göre uygun kolşisin dozuyla tedavi edilebilmelerine yardımcı olabilmeyi, ve böylece kolşisin tedavisi sırasında hastanın karşılaşma ihtimali bulunduğu yan etkileri minimuma indirmeyi amaçladık. Ayrıca CYP450 enzim ailesinden %60 ilacın metabolizmasından sorumlu olan CYP3A4 gen polimorfizmlerinin

populasyonumuza özgü genotipik varyantlarını belirleyerek, bu gen aracılığıyla metabolize edilen diğer farmakolojik ajanlarının da tedavideki etkinliklerini ve yan etkileri arasındaki etkileşimlerin belirlenmesine ışık tutabilmeyi amaçladık.

Böylece bu araştırmamızın sonucunda, MDR1 ve CYP3A4 gen bölgelerinde klinik etkileri tanımlanmış olan bu polimorfizmler ışığında, AAA hastaları üzerinde etkinlikleri istatistiki anlamlılıklarına göre yorumlanarak, AAA hastalığı için bireyselleştirilmiş tedavi alternatiflerine ulaşabilmeyi hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Herediter Peryodik Hastalıklar ve Ailevi Akdeniz Ateşi

Sistemik otoenflamatuar hastalıklar enflamasyon atakları ile seyreden, ataklar sırasında otoantikor titresinin normal sınırlarda olduğu ve antijen spesifik T hücrelerinin yokluğu ile karakterize bir grup kalıtsal bozukluktur (1–5). Sıklıkla artralji veya artritin görüldüğü, ateşin bölgesel enflamatuar tutulumlara eşlik ettiği periyodik rahatsızlıklardır. Bu grup hastalıklar, bağışıklık sistemindeki konjenital enflamasyon hataları olarak da değerlendirilebilir (1, 5)

Sistemik otoenflamatuar hastalıklardan mendel kalıtımına uyan ve eklem bulguları ile karakterize olan hastalıklardan üçü otozomal dominant kalıtım tipine sahip olup, bu üç hastalık da NALP3 genindeki mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. Bu hastalıklar, ailevi soğuk otoenflamatuar sendromu (“Familial Cold Autoinflammatory Syndrome”, FCAS; “Familial Cold Urticaris”, FCU); “Muckle-Wells” sendromu, (MWS) (1, 4) ve neonatal başlangıçlı multisistem enflamasyonu (“Neonatal onset multisystem inflammatory disease”, NOMID/CINCA) (1, 6–9) hastalıklarıdır. TNFRSF1A genindeki mutasyonlar sonucu meydana gelen ve tümör nekrozis faktörle birlikte görülen, tümör nekrozis faktör reseptör-ilişkili periyodik sendrom (TRAP) (1, 10, 11), ve PSTPIP1 (Prolin serine threonin phosphatase interactin 1) genindeki mutasyonlar sonucu oluşan, piyoderma gangrenozum ve akne ile birlikte görülen piyojenik artrit (“Pyogenic arthritis with pyoderma gangrenosum and acne”, PAPA) otozomal dominant kalıtım tipine sahip diğer otoenflamatuar hastalıklardır (11, 12). Hiperimmünglobulin D (HIDS) sendromu (1, 13) ise, Mevalonate kinase geninde mutasyonlar sonucu ortaya çıkar ve otozomal resesif geçişlidir (14).

Tablo 2.1.1: Hereditör otoenflamatuvar hastalıklardan sorumlu genler (15)

Kısa İsim	Hastalık İsmi	OMIM	Kalıtım tipi	Kromozom Bölgesi	Gen
FMF	Ailevi Akdeniz Ateşi	249100	Resesif	16p13	MEFV (Akdeniz Ateşi)
MKD	Mevalonat Kinaz Eksikliği		Resesif	12q24	MVK (Mevalonat Kinaz)
MA	Mevalonik Asidüri	610377			
HIDS	Hiper IgD Sendromu	260920			
TRAPS	TNF-reseptör ilişkili periyodik sendrom (FHF-Ailevi İrlandalı Ateşi)	142680	Dominant	12p13.2	TNFRSF1A (Tümör Nekrozis Faktör Reseptör Süper Ailesi 1A)
CAPS	Kriyopirin-iliskili periyodik sendrom		Dominant	1q44	NLRP3
FCAS	Ailevi soğuk enflamatuvar sendrom (FCU, ailevi soğuk ürtiker)	12100			(NLR ailesi, pirin domeyn bulunduran 3)
MWS	Muckle-Wells sendromu	191900			
CINCA	Kronik infantil nörolojik kutanöz ve artiküler sendrom (NOMID, neonatal başlangıçlı multisistemik enflamatuvar hastalık)	607115			
NAPS12	NLRP12-iliskili periyodik sendrom	Yok	Dominant	19q.13.4	NLRP12 (NLR Ailesi, pirin domeyn içeren 12)
Majeed Sendromu	CRMO, Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit, CDA, konjenital fisertropoietik anemizi ve nötrofilik dermatoz	609628	Resesif	18p11.31	LPIN2 (Lipin 2)
PAPA Sendromu	Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum ve akne	604416	Dominant	15q24-q25.1	PSTPI1 (Prolin-Serintreonin fosfatase ilişkili protein-1)
	Granümatöz hastalıklar			16q12	NOD2 (Nükleotid Bağlanma Oligomerizasyon Domeyn 2)

BS	Blau (Jouba) sendromu	186580	Dominant		
EOS	Erken başlangıçlı sarkoidoz	609464	Dominant		
CD	Crohn hastalığı	266600	Multifaktöryel		
RHM	Tekrarlayan hidatiform mol	231090	Resesif	19q13.4	NLRP7 (NLR ailesi, Pirin içeren domeyn 7)

Otozomal resesif kalıtılan AAA, otoenflamatuar hastalık ailesinin bir prototipi olarak düşünülebilir (1). AAA, belli aralıklarla tekrar eden ağrı ve ateş ile birlikte, periton ve/veya sinovyum ve/veya plevra enflamasyonu ile karakterize, otozomal resesif olarak kalıtılan sistemik otoenflamatuar bir hastalıktır (16). Ateş, karın ağrısı ve lökositöz episodları olan ilk olgu 1908 yılında sunulmuştur (17). Daha sonra 1945 yılında 10 olgulu bir çalışmada hastalık ayrı bir klinik antite olarak tanımlanmış ve AAA için “selim paroksizmal peritonitis” ismi önerilmiştir (18). Hastalıkla ilgili rekürren poliserözit, rekürren kalıtımsal poliserözit, ailevi paroksizmal poliserözit ve peryodik peritonit adlandırmaları yapılmakla birlikte (1, 18), hastalığın bugünkü adı Fransız ve İsrail’ li klinisyenler tarafından verilmiştir (19-21).

AAA, Akdeniz bölgesinde yaşayan popülasyonlara özgü bir hastalık olmakla birlikte, sıklıkla Türk, Ermeni, Arap ve Yahudi soyundan gelen bireyler arasında görülmektedir (1, 5). Yüzyıllar boyu süren göçler nedeni ile İtalya, Fransa, Yunanistan ve İspanya gibi diğer Akdeniz ülkelerinde de artık nadir bir hastalık olmaktan çıkmıştır (22–27). Hastalığın moleküler tanısına yönelik kullanılan analizlerin yaygınlaşması ile dünyanın her bir tarafından bildirilen olgular bulunmaktadır (14, 22, 23, 27).

Otozomal resesif hastalıklar sadece iki mutant alleli bulunan ve hiç normal alleli bulunmayan yani homozigot bireylerde görülür. Etkilenmiş bir kişinin her iki ebeveyni de heterozigottur. Etkilenmiş kişinin her bir ebeveyninden resesif alleli alma riski $1/2$ ’dir, dolayısıyla iki resesif alleli de alarak etkilene riski $1/2 \times 1/2$ veya $1/4$ ’ tür. Etkilenmiş tek aile bireyi indeks vaka olabilir, ancak etkilene başkaları da varsa bunlar kardeşlerdir ve ailede akraba evliliği sık olmadığı sürece soyun başka kısımlarında görülmeyebilir (28).

2.2. Epidemiyoloji

AAA’ nin görülme sıklığı etnik kökenler arasında farklılıklar göstermektedir. Yahudi soyu, kendi arasında alt gruplara ayrılmaktadır. Seferad Yahudilerinde $1/250$ – $1/1000$, Doğu Avrupa kökenli Eşkenaz Yahudilerinde ise bu oran $1/73.000$ sıklığında görülmektedir. Taşıyıcı sıklığı da Yahudi soyları arasında farklılıklar göstermektedir; Irak kökenli Yahudilerde %39, Kuzey Afrika kökenli Yahudilerde

%22, Eşkenaz Yahudilerde %21, İran kökenli Yahudilerde %6 olduğu bildirilmiştir (29). AAA hastalığının ülkemizdeki görülme sıklığının 1/1000, taşıyıcı sıklığının ise 1/5 veya 1/10 olduğu bilinmektedir (30, 31).

2.3. Klinik Özellikleri:

AAA' nin klinik tanımlamasında Sohar ve ark., Livneh ve ark. ve Dilşen tarafından tanımlanmış çeşitli kriterler mevcuttur (14, 21, 31–34). Ancak, bu gün AAA' nin tanı kriterlerinden en sık Tel-Hashomer kriteri kullanılmaktadır (35,36).

Tablo 2.3.1: Tel-Hashomer kriterleri (36)

Major kriterler	Minör kriterler
Ateş ve serözit	Tekrarlayan ateşli ataklar
AA tipi amiloidoz	Erizipel benzeri eritem
Kolşisine cevap	Aile öyküsü

Kesin teşhis için 2 major ve 2 minör, şüpheli teşhis için de 1 major ve 1 minör kriter gerekmektedir (36).

Klinikte, AAA hastaları fenotipik özelliklerine göre üç gruba ayrılmaktadır:

I: Tekrarlayan ateş ve seröz zarların iltihabı (peritonit, sinovit veya plörit) ile karakterize,

II: Tekrarlayan enflamasyon ve ateş öyküsü olmayan hastada ilk bulgu olarak amiloidoz ortaya çıkması,

III: Subklinik ya da preklinik AAA olarak adlandırılır, klinik olarak hasta olmayan ancak MEFV gen mutasyonu saptanması durumudur (21, 30-33, 37-40).

Atakları başlatan etken, kişiler arasında değişkenlik göstermektedir. Ağır egzersiz, yorgunluk, ruhsal travma ve uzun süren hareketsizlik, atakları başlatan nedenler arasında yer almaktadır (14, 35, 41-43).

Ateş, AAA' nin major tanı kriterleri arasında yer alan önemli bir klinik bulgudur. 38–40 °C' ye kadar çıkabilmekte ve 12–96 saat sürebilmektedir. Nadir olmakla birlikte (%2), ateş hastalıkla ilgili tek bulgu olabilmektedir (14, 22, 35, 42, 43).

Abdominal ağrı AAA' nin bir diğer major tanı kriteri olup, hemen hemen olguların yarısında ilk semptomdur ve hastaların %90–95' inde görülür. Genellikle

bir kadranda başlayıp generalize olmaktadır. Ağrının şiddeti hafif gaz ağrısından, akut karın tablosuna (distansiyon, rijidite, rebaund, peristaltizmde yavaşlama, konstipasyon, %10–20 sıklıkla diare) kadar değişebilen düzeylerde olabilir. Soluma ile ağrı şiddeti alevlenir ve buna peritonel enflamasyon eşlik eder. Hızlandırıcı bir olay olmadan, ataklar aniden başlar ve 6–96 saat arasında son bulur (44). Genellikle hasta veya ailesinden apendektomi, eksploratif laparotomi ve/veya laparoskopi hikayesi alınabilir (21).

Plörezi ve perikardit genellikle unilateral, ani başlangıçlıdır ve plevral efüzyon şeklinde olur. İnspiriumda artan göğüs ağrısı, solunum seslerinde azalma, hızlı, kısa ve yüzeysel solunum ile karakterizedir. Yahudi, Arap ve Türk hastalarda %25-50 sıklıkla bildirilmektedir (21, 35, 42).

Artrit ve/veya artralji, en sık monoartrit şeklinde olmak üzere, AAA olgularında %50-75 sıklıkla bildirilmiştir. Eklem bulguları kendiliğinden veya travma sonrası ortaya çıkabileceği gibi, egzersiz de artriti tetikleyici bir faktör olabilir. Genelde alt ekstremitelerde ve büyük eklemlerde (dizler, ayak ve ayak bilekleri) tutulum vardır. Eklemler ataklar arasında normaldir. Eklem bulguları, hastalarda bazen tek bulgu olabilir (30, 31, 35, 42, 43).

Cilt bulguları içerisinde en sık görüleni bacak ön yüzünde, ayak bileğinde veya ayak sırtında deriden kabarık, tek taraflı, sıcak, hassas ve sınırları belirgin kırmızı plaklarla seyreden erizipel benzeri eritem olarak adlandırılan ve genellikle 2-3 gün içinde kendiliğinden gerileyen döküntülerdir (27, 30, 31, 34). Cilt bulgularının tüm AAA olgularının %20,9' unda bulunduğu bildirilmiştir (27).

Hastalarda yaygın kas ağrısı tek bulgu olabilir. Kısa süreli olabileceği gibi, 2-3 hafta süren yaygın kas ağrıları şeklinde de görülebilir ve kolşisin tedavisine iyi yanıt alınmaz. Semptomların gerilemesinde kortikosteroidler ve non-steroidal anti-enflamatuar ilaçlar etkilidir (14, 42, 43, 45).

Yaklaşık olarak hastaların %90' ı ilk belirtisini 20 yaş öncesinde göstermektedir (21-23, 46, 47). Erkeklerde, kadınlara oranla AAA' nin görülme sıklığı daha yüksek olup, bu oran E/K= 1,5–2,0 olarak bildirilmiştir.

Hastalığın klinik ciddiyetini belirlemek üzere farklı skorlamalar kullanılmaktadır. En çok kullanılan Pras skorlamasında kliniği oluşturan bazı önemli parametreler puanlandırılmıştır ve her bir hasta için toplam puan, AAA hastalığının

linik ciddiyetini belirlemektedir. 3–5 arasında yer alan puanlar “hafif”, 6–8 arasında olanlar “orta” ve >9 olan puanlar da “ağır” olarak değerlendirilmektedir (36, 48).

Tablo 2.3.2: PRAS’ ın Ciddiyet Skorlaması

Ciddiyet derecesi	Başlangıç yaşı (yıl)	Bir ayda geçirilen atak sayısı	Artrit	Erizipel benzeri eritem	Amiloidoz	Kolşisin dozu (mg/gün)
0	>31					
1	21-31	<1				1
2	11-20	1-2	Akut	+		1,5
3	6-10	>2	Uzamış		+	2
4	<6					>2*

*günlük 2 mg doza duyarsız (48)

2.4. Komplikasyonlar

AAA hastalarında sıklıkla görülen komplikasyonlar oligoartrit ve renal amiloidozdur (5). AAA’ ne bağlı ölümlerin ana nedeni olan renal bozukluk, tedavi görmeyen hastalarda sekonder renal amiloidoz gelişmesi ile oluşmaktadır (5). Amiloidoz gelişme sıklığı ırklar arasında farklılık göstermekle birlikte, tedavi edilmeyen olguların %90’ ında 40 yaş civarında amiloidoz geliştiği gözlemlenmektedir. Ülkemizde amiloidoz gelişme sıklığı %60 oranlarında bulunmaktadır (14, 43, 34, 49-51).

2.5. Tetikleyici Faktörler

AAA’ nin fenotipik yansıması, genetik ve çevresel olmak üzere birden fazla etken ile kontrol edilmektedir. MICA (Major histocompatibility complex class I chain-related gene A) geni AAA fenotipi üzerinde etkili olan genetik kontrollerden bir tanesidir. Bu gene ait polimorfizmlerin hastalığın başlangıç yaşını ve atak sıklığını etkilediği ileri sürülmektedir (52). Aynı etnik kökene sahip farklı coğrafik bölgelerde yaşayan bireylerde, hastalığın kliniğinde farklı şekillenmeler olduğu bir gerçektir. Bunun tersi olarak, aynı coğrafyada yaşayan farklı soylardan olan popülasyonların, farklı mutasyon/genotip dağılımına sahip olmalarına rağmen, aynı AAA kliniği gösterdikleri de bilinmektedir (53).

AAA’ nin en önemli komplikasyonu olan amiloidoz’ un gelişmesinde, farklı modifiye faktörlerin etkisiyle, vakalar arasında farklılıklar olduğu belirtilmektedir. Renal amiloidoz gelişiminde etkili olduğu ileri sürülen faktörler arasında SAA1

(serum amyloid A 1) geninin α/α genotipinin varlığı bilinmektedir (54). Bu genotipe sahip olan AAA hastaları, ağırlıklı olarak erkek cinsiyettedir ve hastalık artrit atakları ile seyretmektedir. SAA1 geni sekonder amiloidozda (AA), amiloid fibril oluşumunda substrat görevi yapan serum amiloid A proteinini kodlar. Yapılan çalışmalarda, M694V mutasyonu taşıyan AAA hastalarında amiloidoz gelişim riskinin artmış olduğu bildirilmektedir (54).

2.6. İlgili Hastalıklar

AAA tam anlamıyla otoimmün bir hastalık olmamakla birlikte, vaskülitlerle artmış birlikteliği mevcuttur. Özellikle Poliarteritis Nodosa (%1) ve Henoch-Schönlein Purpurası (%5–7) sıklığı normal popülasyona göre AAA hastalarında belirgin olarak yüksektir (55). Ayrıca, Sistemik Lupus Eritematozus ve Behçet Hastalığı gibi diğer vaskülitler ile bazı glomerulonefritler de birlikte görülebilmektedir (35, 56-58). AAA ile birlikte görülebilen otoimmün hastalıklar tablo 2.6.1’ de gösterilmiştir (27).

Tablo 2.6.1: AAA ile ilişkili hastalık sıklıkları

Hastalık isimleri	Hasta sayısı (%)	E/K
Henoch Schönlein purpurası	75 (2,7)	53:22
Poliarterit nodosa	24 (0,9)	12:12
Behçet sendromu	14 (1,5)	7:7
Kronik enflamatuar artrit	37 (1,3)	16:21
Sistemik lupus eritematozis	4 (0,1)	0:4
Akut romatizmal ateş	139 (5)	100:39
Seronegatif spondilartrit	64 (2,3)	36:28
APSGN	10 (0,4)	5:5
Üveit	6 (0,2)	3:3
Enflamatuar barsak hastalığı	4 (0,1)	3:1

Kısaltmalar: APSGN=Akut poststreptokoksik glomerulonefrit

2716 hastanın verileri yer almaktadır

2.7. Laboratuvar Bulguları

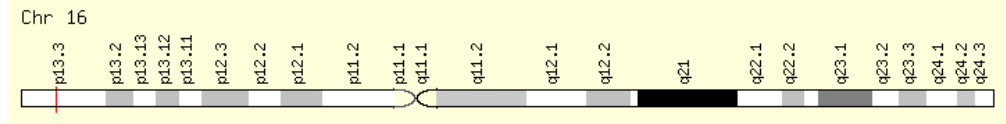
AAA' nin akut atakları sırasında beyaz kan hücresi sayımında serum amiloid A, fibrinojen, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) gibi enflamatuvar medyatör düzeylerinde belirgin artış gözlenmektedir (13, 14, 16). Tam idrar tetkiki ile hematüri ve/veya proteinürinin varlığı belirlenebilir. AAA'nde sitokin, kemokin ve diğer enflamasyonla alakalı proteinler de çalışılmaktadır. Bunlar arasında TNF- α ve γ , sitokinlerle ilişkili reseptörler, kompleman proteinleri, adezyon molekülleri, büyüme faktörleri, immünglobulinler ve antikorlar, IL-1, 4, 5, 6, 10, 12, 18 yer almaktadır (11, 22–27). Ancak, genel görüş AAA' nin otoimmün bir hastalık olmadığı yönündedir. Aynı zamanda, sitokin/kemokin modeli de non-spesifik enflamasyon ile uyumludur.

Tablo 2.7.1: AAA’ nin teşhis kriterleri (58)

Kriter	Değer	Hassasiyet	Spesifite	Yorumlar
Lökosit sayımı	Yükselmiş	% 80	Düşük	
Sedimentasyon oranı	Yükselmiş	> % 95	Düşük	
C-reaktif protein	Yükselmiş	> % 95	Düşük	
Fibrinojen	Yükselmiş	> % 80	Düşük	
Metaraminol uyarması	Parlama indüklemeye	Yüksek	Yüksek	10 mg infüzyon parlamayı 48 saat içinde indükler
MEFV gen mutasyon analizi	Allel belirleme	% 60–80	% 100	
Ekokardiyografi	Perikardiyal efüzyonu	İyi	İyi	Perikardit var olan semptom olduğunda
Kalça-diz grafisi	Eklem harabiyeti	İyi	İyi	
Immunglobulin IgA	Yükselmiş	% 23	İyi	
Immunglobulin IgM	Yükselmiş	% 13	İyi	
Immunglobulin IgG	Yükselmiş	% 17	İyi	
Immunglobulin IgD	Yükselmiş	% 13	İyi	
Serum amiloid A proteini	Yükselmiş	Yüksek	İyi	AA tipi amiloid için
İdrar tahlili	Proteinüri	% 95	İyi	AA tipi amiloid için
Doku biyopsisi	Elma yeşili Kongo kırmızısında çift kırılım	% 80–95 (böbrek için %95)	% 99	AA tipi amiloid için
Serum amiloid P proteini	Nükleer tıp taraması pozitif	> % 95	> % 95	AA tipi amiloid için. Genel olarak kullanılabilir.

2.8. MEFV Geni

“Mediterranean Fever” (MEFV) geni, “Uluslararası FMF Konsorsiyumu” ve “Fransız FMF Konsorsiyumu” tarafından birbirinden bağımsız ve eş zamanlı olarak pozisyonel klonlama yöntemiyle 1997 yılında tanımlanmıştır (59, 60). Kromozom 16p13.3’ de lokalize olan MEFV geni, 14.78 kb uzunluğunda olup, 3.7 kb büyüklüğünde bir mRNA transkripti oluşturmaktadır.

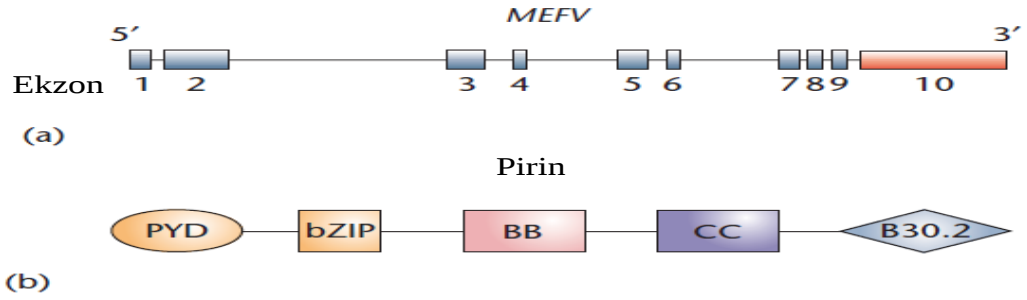


Şekil 2.8.1: 16p13.3’ e lokalize MEFV gen bölgesi (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MEFV&search=MEFV>)

MEFV geni, çoğunlukla lökositlerde eksprese edilen ve pirin/marenostrin adı verilen bir proteini kodlamaktadır. 10 ekzonlu genin ürünü olan proteinine, ateşle ilişkisi nedeniyle, Latince köken alarak “pirin”, Fransızlar tarafından Akdeniz’ in ismi olarak bilinen “Mare Nostrum” (bizim deniz) kelimelerinden esinlenilerek de “marenostrin” adı verilmiştir (14, 30, 31, 61). Proteini 781 aminoasit (aa) büyüklüğündedir (5, 6, 59, 61). Bu proteinin 92 aa’ lik N-terminal bölgesi, 6-heliks homotipik motif (pirin domeyni) oluşturarak, enflamasyon ve apoptozisde yer alan 20’ den fazla protein ailesini tanımlamaktadır (62).

MEFV geninin primer transkriptinin alternatif işlenmelerinin (“splicing”) var olması nedeniyle, insan hücrelerinde iki farklı transkripti bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, MEFV geninin 10 ekzonunu da içeren transkript ve diğeri de ekzon 2’ den tamamiyle yoksun olan transkriptidir (63). MEFV geninin mRNA ekspresyon seviyesi, genin kodlayan sekansına göre, hasta ve sağlıklı bireylerde farklılıklar göstermektedir (64). Ayrıca, farklı hücre kuşaklarında da MEFV geninin ekspresyonu değişkenlik göstermektedir. MEFV geni olgun granülositler, monositler ve myeloid kemik iliği prekürsör hücrelerinde eksprese olurken, lenfositlerde eksprese olmamaktadır. Proteinin subselüler lokalizasyonu hala tam anlamıyla açık değildir. Tam uzunluktaki pirin stoplazmaya lokalize olurken, alternatif işlenen varyantı tarafından kodlanan izoformu nükleusta lokalizedir (63).

MEFV geninin farklı bölgeleri, pirin proteininin farklı fonksiyonel kısımlarını oluşturmaktadır. Birinci ekzon, pirin bölgesini (“Pirin domeyn”, PYD) kodlamaktadır. 2-10 ekzonları tarafından kodlanan bölgeler bilindik protein motiflerini içerir. Bu bölgeler: bZIP transkripsiyon faktörü bölgesi (ekzon 2); B-box çinko parmak (“zinc finger”) (ekzon 3); 2 nükleer lokalizasyon sinyali (3. ve 4. ekzonlar); alfa helikal bölge (ekzon 3–8) ve MEFV mutasyonlarının birçoğunu içeren, 10. uncu ekzon tarafından kodlanan B30.2/SPRY/rfp diye adlandırılan C-terminal bölgesidir.



Şekil 2.8.2: (a) MEFV gen yapısı ve (b) protein ürünü, pirin: pirin proteininin domeyn organizasyonu. PYD, pyrin domeyn; bZIP, bZIP transcription factor basic domeyn; BB, B-box domeyn; CC, coiled coil domeyn ve B30.2, C-terminal B30.2/SPRY/rfp domeyn (5)

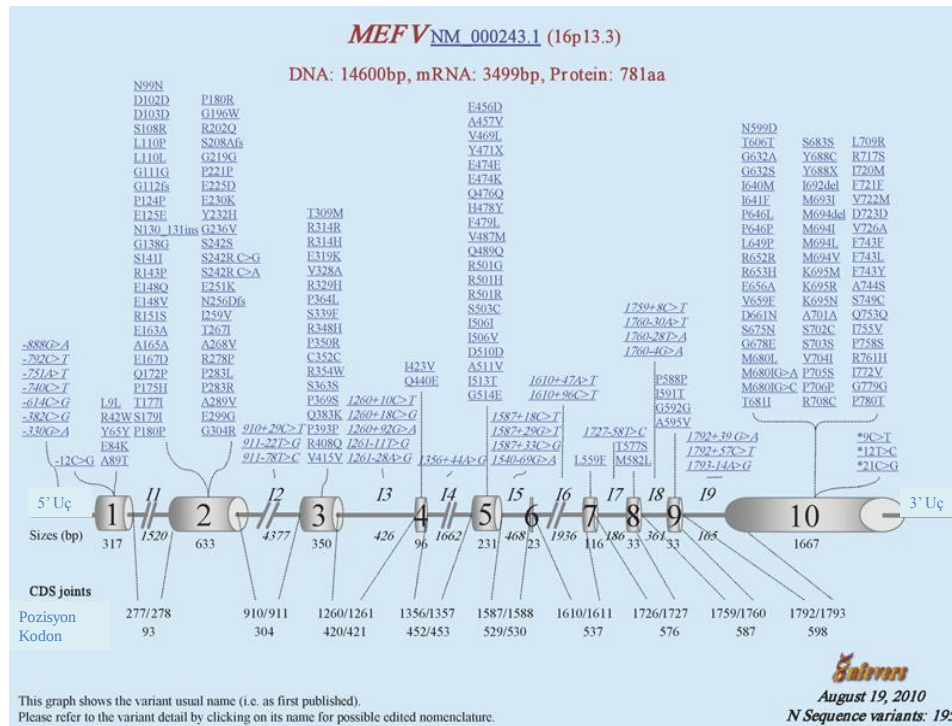
10. uncu ekzonun MEFV mutasyonlarının birçoğunu içermesi, evrimsel süreçte bu ekzonun proteinin önemli bir kısmını oluşturduğuna dair fikirler vermektedir. Pirin, immün cevabın etkinliğini kaldırarak, enflamasyonu kontrol altında tutmaya yardımcı bir proteindir. Bu kontrol sağlanmadan, yetersiz bir enflamatuvar reaksiyon gerçekleşir. Normal şartlarda enflamasyonun minör uyarınları yoksayarak, güçlü ve sistemik olan uyarınlara karşı etkileştiği tahmin edilmektedir. Ancak AAA ataklarında enflamasyonun normal kontrolünün minör enflamatuvar tetikleyicilere kaydığı kabul görmektedir (5).

MEFV geni, ilk klonlandığında pirinin N-terminal bölgesinin (92 aa'lık) dizi veri tabanlarında diğer proteinlerle ilişkili olduğu bulunmuştur. Günümüzde ilk 92 aa'lık kısım pirin bölgesi olarak bilinmektedir. Pirin bölgesi daha sonra başka proteinlerde de tanımlanmıştır. Bu bölgenin sitokin aktivasyonunun düzenlenmesi ve apoptozla ilişkili proteinler arasında etkileşimi kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Ayrıca, bu bölgede hemen hemen hiç mutasyon bildirilmemiştir (65, 66).

Pirinin C-terminal bölgesinde ise, bir B-box çinko parmak (375–407 aa), bir alfa helikal bölge (408–594aa) ve B30.2 (“ret finger” protein veya rpf) (594–774 aa) bölgeleri bulunmaktadır. Hem B-box hem de alfa helikal bölgeleri diğer proteinlerle etkileşerek proteinlerin multimerlerine yeni ve farklı bir şekilde birleşmelerine (multimerizasyon) aracılık edebilirler (6, 30, 31). B30.2 bölgesi ise 500 farklı

proteinde intrasellüler ve transmembran olarak bulunmaktadır (6, 65, 66). Protein–protein etkileşiminde rol oynadığı gösterilmiş olmakla birlikte, pirindeki rolü açık değildir (65).

Bu güne kadar MEFV geninde birçoğu tek nükleotid değişikliği şeklinde olan toplam 198 değişiklik (mutasyon/polimorfizm) saptanmıştır. Bu mutasyonların 23’ ü genin intron bölgelerinde, 4’ ü genin transkripsiyona uğramayan (“untranslated”) bölgesinde (UTS), 2’ si dublikasyon, 2’ si insersiyon ve 2’ si delesyon mutasyonları şeklinde yer almaktadır (INFEVERS database, <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/>, 9.12.2010). Bu mutasyonlardan M694V, M694I, M680I, V726A ve E148Q, 10. uncu ekzonda yer alan ve %70 sıklıkla görülen yanlış anlamalı mutasyonlardır (5).



Şekil 2.8.3: MEFV geninde görülen mutasyonlar

(<http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/schema.php?n=1>)

MEFV genotiplerinin penetransı oldukça değişmektedir; literatüre göre en çok M694V (%99) ve en az sıklıkta da E148Q (%45) mutasyonları görülmektedir

(5). Ülkemizde en sık görülen mutasyonlar ise, M694V (%51,4), M680I (%14,4) ve V726A (%8,6)'dır (67).

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda, AAA hastalarının MEFV genindeki bir mutasyon için homozigot olması gerekmediği, birleşik heterozigot (homolog kromozomlar üzerinde farklı allellerde 2 farklı mutasyonun yer alması veya aynı kromozomdaki gen içinde birden fazla mutasyon varlığı) olmasının da yeterli olabileceği belirtilmiştir (23, 68). Bu kompleks allellerin gen içi rekombinasyonlar ile oluştuğu ve ikinci intronun rekombinasyonel değişiklikler için merkez olabileceği ileri sürülmektedir (24).

2.9. Hastalığın Şiddeti ve Fenotip / Genotip Bağıntısı

AAA' nde, hastanın sahip olduğu MEFV gen mutasyonları ile hastalığın klinik prezentasyonu arasındaki ilişki önemli bir konudur. Hastaların büyük çoğunluğu, homozigot ya da birleşik heterozigot olmak üzere, MEFV geninde iki mutasyona sahiptir (5). MEFV geninde rastlanan mutasyonların büyük bir kısmı tek nükleotid yer değiştirmesi (yanlış anlamı) şeklinde olup, genellikle 10. uncu ekzonda bulunmaktadır (6, 30, 31). Mutasyonlar, pirinin yapısındaki B30.2 bölgesinde aminoasit değişikliklerine neden olmaktadır. M694V ve M694I, MEFV genindeki ilk belirlenen mutasyonlardır.

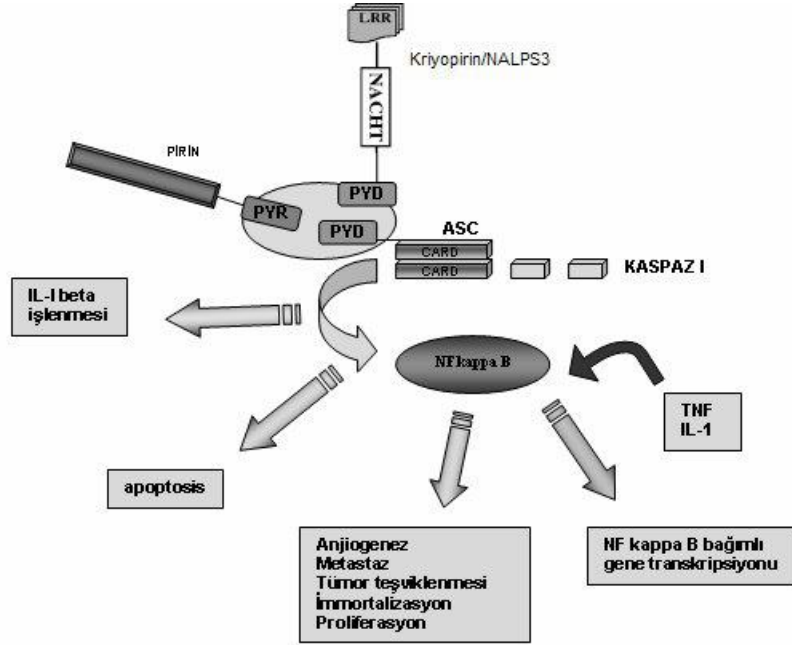
Kuzey Afrikalı Yahudilerde homozigot M694V mutasyonuna sahip hastaların %90' ında amiloidoz gelişmesi ile, bu mutasyonla sekonder amiloidoz arasında sıkı bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda M694V mutasyonu ile fenotipin daha ağır gözlemlendiği ve M694V dışındaki mutasyonların varlığında amiloidoz riskinin azaldığı bildirilmesine rağmen, farklı çalışmalarda bu görüş rededilmiştir (27, 35, 42, 43). Bununla birlikte, aile içi ve aileler arası klinik farklılıklara dayanılarak fenotipin MEFV lokusu dışındaki genler ve/veya çevresel etmenlerden etkilendiği düşünülmektedir.

2.10. Patogenetik Hipotez (Pirin/Marenostrin)

MEFV geninin kodladığı pirin/marenostrin proteini, normal şartlarda enflamasyonu kontrol altında tutmaktadır. Patogeneizde en çok kabul gören hipotez, pirin/marenostrin' in nötrofil aracılığıyla enflamasyonu baskılamasında sorun

olmasıdır. Mutasyona uğramış genin protein ürünü, enflamasyondaki kontrol görevini yapamamakta ve uyarılmış olan enflamasyon durdurulamamaktadır. Dolayısıyla, ateşle birlikte belirli bölgelere sınırlı enflamasyon atakları şeklinde klinik tablo ortaya çıkmaktadır (14, 30, 31).

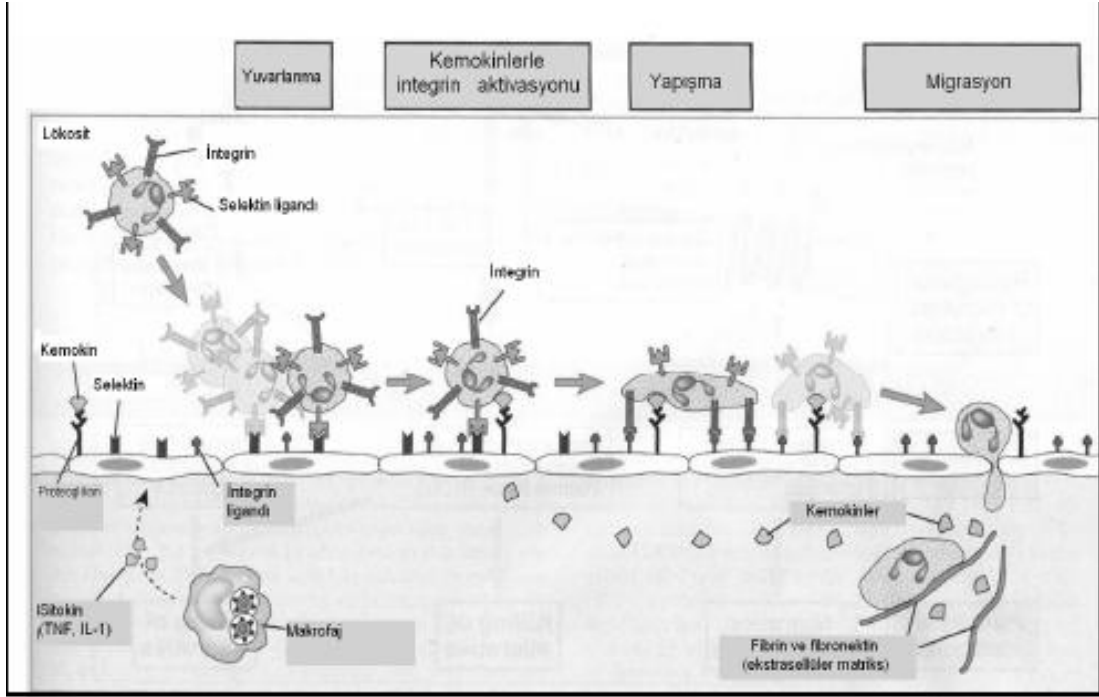
Pirin/marenostrin proteininin amino terminal ucuyla, hücre sinyal iletim yolunda görevli bir grup proteinin benzerlik gösterdiği saptanmıştır. NF-kappa' nın da içerisinde olduğu B-hücre sinyal iletiminde rol oynar. NF-kappa ise önemli bir transkripsiyon faktörüdür ve proenflamatuar fonksiyonları yönlendirir (69). Pirin domeyn bölgesi 92 amino asitten oluşur ve ölüm bölgeleri (DD: death domain), ölüm etkili bölgeleri (DED: death effector domain) ve kaspaz bölgelerini (CARD: caspase recruitment domain) kapsayan ölüm bölgesi üst ailesinin bir üyesidir. Bu ailenin üyeleri enflamasyon proteinlerinde, apoptozisde rol alan bazı proteinlerde ve protein-protein etkileşiminde rol almaktadır (62). Bu domeyn ailesinin üyesi proteinler, kaspaz çalıştırıcı proteinlerle birlikte hareket ederek proapoptotik bir protein olan ASC ("apoptosis speck complex") oluşumuna katılırlar. ASC de nötrofillerde apoptozisin down regülasyonunda görev alır ve ASC' nin ekspresyonunun enflamasyon olayında arttığı gösterilmiştir (69).



Şekil 2.10.1: Pirin domeyn bölgesi bulunan proteinler apoptotik speck proteini (ASC) ile etkileşerek enflamasyonu düzenlerler. Pirin inhibitör olarak rol alırken, ASC ve kriyopirin’in birleşmesi kaspaz-1 yoluyla IL-1’i uyarır. Potansiyel mutasyonlar sonucu pirindeki fonksiyon kaybı, pirinin inhibitör rolünü azaltarak otoenflamasyona yol açabilir. Alternatif olarak, MWS/FCU/NOMID hastalarında olduğu gibi, kriyopirin’ e yeni fonksiyon kazandıran mutasyonlar bu yolağı aktif hale getirebilir. ASC, apopitozda ve enflamasyon yanıtının hem baskılanmasında hem de regülasyonunda rolü olan NF-kappa transkripsiyon faktörünün aktivasyonunda etkilidir [(IL-1,interlökin-1; LRR, lösince zengin tekrarlar, (leucine-rich repeats); TNF, tümör nekroz faktörü)] (70)

AAA’ ne bağlı enflamatuar ataklarda ASC, CASP1 ve IL-1B genlerinin ekspresyonlarının araştırıldığı bir çalışmada, atak sırasında ASC geninin izoform 2 bölgesinin ekspresyonunun belirgin seviyede azaldığı tespit edilmiştir. Böylece, ASC geninin izoform 2 bölgesinin apoptoz uyarısında görevli olduğu düşünülmektedir (71).

Akut atak sırasında, MEFV gen ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada, hastalarda kontrollere göre MEFV gen ekspresyonunun daha düşük olduğu, ataklar sırasında bu farkın daha belirginleştiği bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, AAA bulunmayan sepsisli ve akut apandisitli hastalarda da atak sırasında MEFV gen ekspresyonunda azalma saptanmıştır (72).



Şekil 2.10.2: Nötrofillerin kemotaktik aktivasyonu (72)

2.11. Kolşisin

Günümüzde AAA' nin tedavisinde, enflamatuvar atakların sıklığını en etkin biçimde kontrol eden ve renal amiloidoz gelişimini engelleyen tek farmasötik ajanın kolşisin olduğu bilinmektedir.

Kolşisin ("colchicine"), ismini Karadeniz bölgesi' nin doğu kıyı kesiminde eski dönemlerde yerleşim yeri olarak kullanılan ve kökeni Yunanca' ya dayanan "Colchis" isimli bölgeden almaktadır (73, 74). Zambakgiller familyasına ait *Colchicum autumnale* (meadow saffron) ve *Gloriosa superba* (glory lily) adlı iki tür bitkiden elde edilmektedir.



Şekil 2.11.1: *Colchicum autumnale*



Şekil 2.11.2: *Gloriosa superba*

İlk kez 6. ıncı yüzyılda gut tedavisi için kullanılmış olan kolşisin (73, 74), 1972 yılında Goldfinger tarafından AAA' nin tedavisinde kullanılmaya ilk kez başlanmıştır (73, 74). Ayrıca modern tıpta da gut, behçet hastalığı, primer bilier siroz, psöriazis, palmo-plantar pustolosis, sweets's sendromu, skleroderma, sarkoidoz, amiloidoz, vaskülit, immün trombositopenik purpura ve kistik fibrozis gibi birçok hastalığın tedavi sürecinde kullanılmaktadır (73-77).

Kolşisin antienflamatuar, antimitotik ve antifibrotik aktiviteye sahiptir (73-77). Bilinen en temel aktivitesi mikrotübül polimerizasyonunun inhibisyonudur. Bu özelliği ile kolşisin, bilinen en eski antimitotik ilaç olma özelliğindedir.

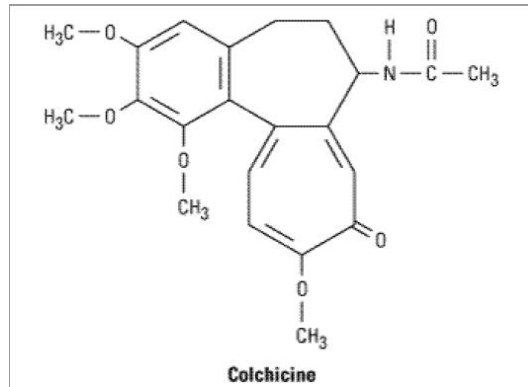
Hücrede sitoskeletonun iskelet yapısını oluşturan mikrotübüller, aynı zamanda polimerizasyon, bölünme ve hücre göçü gibi birçok aktivitenin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Her bir mikrotübül α ve β tübülün heterodimerlerinden oluşmaktadır. Kolşisin molekülü tübüline bağlanarak, mikrotübül uzamasını sonlandırmakta, mitotik ipliklerin dağılmasına neden olarak polimerleşmeyi önlemekte ve böylece hücre bölünmesini durdurmaktadır. Ayrıca kolşisin, sitoskeleton oluşumunu bozarak, hücre içi vezikül hareketliliğinde rol alan sitokin ve kemokin gibi endojen medyatörlerin sekresyonunda etkin olan sinyal iletim yollarının işlev yitirmesine de neden olmaktadır (75, 77).

Kolşisinin en büyük antienflamatuar etkisinin, lökosit kemotaksisini inhibe etmesi ile oluştuğu belirtilmektedir. Böylece, lökositlerin adhezyon, hareketlilik ve sitokin üretimini etkilmektedir. Bununla birlikte, nötrofil membranlarından adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak göç inhibisyonuna yol açtığı ve endotel hücreler ile etkileşimi belirgin şekilde inhibe ettiği yapılan çalışmalar ile

gösterilmiştir (73). Kolşisinin etkinliğinin, lökositlerde yer alan konsantrasyonu ve aktif enflamasyondaki rolü ile ilgili olduğu bilinmektedir. Ancak yine de kolşisinin lökositlere göstermiş olduğu affinitenin nedeni kesinlik kazanmamıştır (73). Antienflamatuar etkinin diğer mekanizmalar ile de oluşabileceği üzerinde durulmaktadır (77). En etkin tedavi dozunun 0.015 mg/kg olduğu, 0.1 mg/kg'ın üzerindeki dozların toksik etki gösterdiği ve 0.8 mg/kg'ın üzerindeki dozların ise ölümcül etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Güvenilir tedavi aralığının dar oluşu, hekimler için problem yaratmaktadır (77).

2.11.1. Yapısı /Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği:

Kolşisin alkaloid' dir (73-79) ve kimyasal molekülü; trimetoksi benzen zinciri (A Zinciri), metoksi tropon zinciri (C Zinciri) ile A ve C zincirlerini bağlayan ve C7 pozisyonunda asetamid grubu taşıyan yedi üyeli zincir (B Zinciri)' den oluşmaktadır (73-75).



Şekil 2.11.1.1: Kolşisinin kimyasal konfigürasyonu (78)

Kolşisinin farmakokinetiği ve farmakodinamiği ile ilgili yapılan çalışmalarda Tubulin, Sitokrom P4503A4 (CYP3A4), ve MDR1 (P-gp) olmak üzere üç temel yapının görev aldığı gösterilmiştir (77). Farmakokinetik etkisi oral alınımından hemen sonra emilmesi ile başlar, en fazla 2 saat içerisinde plazma zirve konsantrasyonuna ulaşır ve metabolitlerinin barsak ve idrarla atılmasıyla son bulur. Kolşisinin sonuç etkisi, ağrı ve enflamasyonu önemli ölçüde hafifletmesidir (78).

Tubulin, kolşisinin hücrede bağlandığı temel moleküldür (79). Mikrotübüllere polimerize olan ve hücrede her zaman bulunan bir proteindir. Hücre transportu ve bölünmesinde önemli rolü bulunmaktadır. Kolşisin, tubulin proteinine eşit molarla bağlanıp, tubulin polimerizasyonunu engeller ve böylece mikrotübül fonksiyonunu

bozarak antienflamatuar etkisini gösterir (75). Böylelikle mikrotübüllere polimerizasyonu engelleyerek lökosit göçüne ve fagositoz inhibisyonuna neden olur (78). Tubulin-kolşisin kompleksinin yarılanma ömrü 20–30 saat arasındadır.

Kolşisin için ikinci ana enzim, birçok farmasötik ajanın metabolizmasında görevli Sitokrom P450 CYP3A4' tür. İnce barsak ve karaciğerde yoğun olarak bulunmaktadır. CYP3A4, üç metoksi grubunu demetilleyerek kolşisin metabolizmasında temel rol oynar. CYP3A4 aktivitesi, bireyler arasında farklılıklar gösterir. Kolşisin CYP3A4' ün substratı olan diğer ilaçlar ile birlikte verildiğinde vücutta klirensi düşerek etkinliği azalır (77).

Üçüncü hedef protein, P-gp' dir. P-gp, hücre membranında lokalize olan ve birçok ilaç ile etkileşime giren, ATP bağımlı bir fosfo-glikoproteindir. İlaçların taşınımından ve ilacın hücreden ihracından sorumludur. İlacın hücre içine alınmasını engelleyerek, tedaviye direnç geliştirilmesine neden olur. Sağlıklı bireylerde P-gp, ince barsak, karaciğer, böbrek ve kan-beyin bariyerinde eksprese olmaktadır. P-gp, substratların emilim, dağılım ve atılımını etkilemektedir. İnhibitörler ve modülatörlerin birarada verilmesi, P-gp aktivitesini değiştirerek, hücrelerarası kolşisin birikimine yol açmakta, böylece kolşisinin toksik etkisinde artış meydana gelmektedir (77).

Kolşisin, hızlı bir şekilde jejunum ve ileum tarafından absorbe edilmekle birlikte, absorpsiyonu bireyler arasında farklılıklar göstermektedir. Farmakokinetik olarak kolşisin, oral yolla 1 mg alındıktan maksimum 2 saat sonra, zirve plazma konsantrasyonuna ulaşır. Lipofilik olmasına karşın, kısmi olarak intestinal bariyer tarafından bloke edilir. Yaşlı bireylerde ve sağlıklı gönüllülerde biyoyararlanım %24–88 olarak gösterilmektedir. Kolşisin emiliminde ve tedaviye verilen cevapta bireyler arası farklılıklar olmasının birincil nedeni kolşisinin farmakokinetiğinden kaynaklanmaktadır.

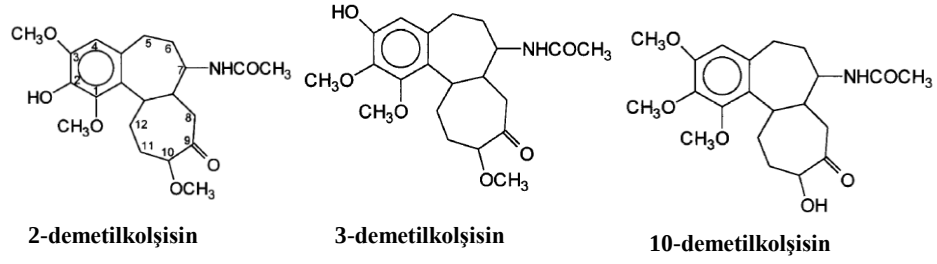
Kolşisin farmakokinetiğindeki bu farklılıklar, metabolizmasında görev alan CYP3A4 ve P-gp ile ilişki göstermektedir (77). Kolşisinin dağılım yarı ömrü 1–2,7 saat arasındadır. Dağılım hacminin (7–10 l/kg) yüksek olması, dokular tarafından yaygın bir şekilde tutulduğunu göstermektedir. AAA' ne sahip olan hastalarda yapılan bir çalışma toplam kolşisinin serbest fraksiyon yüzdesinin %35–56 olduğunu göstermektedir. Kolşisin eritrositlerde depo edilmekle birlikte, %3' ünden daha az

kısmı lökositlerce alınmaktadır. Kolşisin kemotaksis veya adezyon inhibisyonu gibi biyolojik etkilerini lökosit fonksiyonları üzerinde göstermektedir. İlacın eliminasyon yarı ömrü 16 saat civarındadır ve kolşisin tedavisi sonlandırıldığı zaman biyolojik etkinliğinin ortadan kalkması için 24-48 saat geçmesi gerekmektedir. Kolşisinin farmakodinamik etkisi için gerekli zaman, lökositlerde depolanmış kolşisin konsantrasyonu ile benzerlik göstermektedir. Böylece lökositler, kolşisinin antienflamatuar etkisinin gerçekleştiği yer olarak düşünülmektedir (80).

Vücuttaki toplam kolşisin klirensinin % 5-20' sinden böbrek sorumludur. Sağlıklı gönüllülerde renal kolşisin klirensi 4 l/s' dir ve toplam klirens %10' dur. Üriner atılım, glomerular filtrasyon ve tubuler sekresyon aracılığı ile gerçekleşir. Kolşisinin sürekli kullanımında, kan-beyin bariyerini geçerek beyinde birikebileceği gösterilmiştir. Endotel hücrelerin luminal kısmında eksprese olan P-gp, beyin ilaca maruziyetini sınırlandırmak için, kolşisini serebral intravasküler kompartmana taşımaktadır. Gebelerde kolşisinin placentadan geçtiği belirlenmiştir.

Kolşisinin tubuline bağlanabildiği her durumda dokulara nüfuz edebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak P-gp ekspresyonu, fizyolojik bariyerler tarafından korunan hücrelere ilaç maruziyetini sınırlandırmaktadır. Bu nedenle kolşisin dağılımında oluşabilecek riskler, eşlik eden diğer tedaviler ve/veya P-gp disfonksiyonuna neden olan etkenler tarafından oluşturulabilmektedir.

Kolşisin metabolizması ile ilgili çalışmalar henüz in vitro hayvan deneyleri şeklinde bulunmaktadır. Sıçan deneylerinde kolşisinin karaciğerden %30' dan daha az oranda atıldığı belirlenmiştir. Bu nedenle kolşisinin metabolik klirensi üzerinde, kolşisinin serbest plazma fraksiyonunun ve karaciğer enzimlerinin etkinliği bulunmaktadır. Karaciğerde kolşisinin oksidatif demetilasyonu sonucu 2-3 ve 10-demetilkolşisin'e (DMC) dönüştüğünü belirtmektedir.



Şekil 2.11.1.2: 2DMC, 3DMC ve 10DMC (colchicine)' in kimyasal konfigürasyonu

Safra yoluyla atılım, kolşisin eliminasyonunda belli başlı bir yoldur. Enterohepatik döngü oluşmakta ve plazma değerinin pik yapmasını geciktirmektedir. Eliminasyon yarı ömrü sağlıklı gönüllülerde 14-30 saat arasındadır (81). Yaşlı insanlarda (82) ve kolşisin toksisitesine maruz kalan bireylerde (83) de aynı değerlerde bulunmaktadır. Eliminasyon yarı-ömünün tubulin-kolşisin kompleksinin ayrılma zamanı ile eş zamalı olduğu görülmektedir (84). Kolşisinin, reseptöründen uzun sürede ayrılması, ilacın eliminasyonunun yavaş olduğunu açıklamaktadır (77). Safra kanalı fonksiyon bozukluğu bulunan hastalarda, kolşisin zehirlenmesi görüldüğü bildirilmiştir. Kolşisinin safra yolu ile atılımda safra kanalı zarlarından yoğun bir şekilde eksprese olan P-gp, önemli bir proteindir. P-gp, kolşisini intrahepatik kısımdan safraya taşımakla görevlidir. İlaç-ilaç etkileşimleri de bu aşamada gerçekleşmektedir (81).

2.11.2. İlaç Etkileşimleri / Toksisitesi:

Kolşisinin uzun süreli kullanımı yan etkilerinin gelişmesine yol açmaktadır. Peristaltik hareketleri artırması nedeniyle gastrointestinal sisteme (GIS) ait semptomlar sıklıkla görülmektedir. Günlük 2,6-3,9 mg doz aralığında alınan kolşisinin, GIS semptomlarına yol açtığı belirtilmektedir (85). Yine uzun süreli kullanımına bağlı olarak nöromusküler tutulum olabileceği bildirilmiştir (86). Bu

nedenle, P-gp veya CYP3A4 ile etkileşime giren ilaçlarla eş zamanlı olarak, kolşisin kullanılması akut toksisiteye neden olmaktadır (77). Kolşisin metabolizması üzerinde yapılan bir çalışmada, siklosporinin P-gp' ni inhibe ederek kolşisinin safra klirensini 0,122 ml/dk' dan 0,024 ml/dk' ya düşürdüğü, dolayısıyla plazma seviyesini artırdığı bildirilmiştir. Bu etkileşim kolşisin ile siklosporini bir arada kullanmak zorunda kalan hastalar için ciddi yan etkilerin olduğunu açıklamaktadır (81).

Tablo 2.11.2.1: Kolşisin intoksikasyonunun klinik prezentasyonu (73)

Faz I	Faz II	İyileşme
Karın ağrısı	Böbrek yetmezliği	Lökositosis
Mide bulantısı	Solunum yetmezliği	Alopesi
Kusma	Kalp yetmezliği	
İshal	Pansitopeni	
Susuzluk	Metabolik asidoz	
	Elektrolit dengesizliği	
	Dissemine intravasküler koagülasyon	
	Konvülsiyon	
	Koma	

2.12 Tedavi

Kolşisinin AAA tedavisindeki etkinliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Hastanın yaşı ve ağırlığına bakılmaksızın 1mg/gün dozunda tedaviye başlanması ve remisyona girinceye kadar 1,5-2,5 mg/gün dozlara çıkılması gerektiği belirtilmektedir. (87, 88). Farklı çalışmalarda ise, kolşisin tedavisinin amiloidoz gelişimini de önlediği belirtilmiştir. Kolşisin kullanımı ile AAA ataklarının sıklığı azalmaktadır. Bu nedenle, AAA tanısı konulan hastalara kontrendikasyon yoksa mutlaka kolşisin tedavisi başlanması önerilmektedir (14, 24, 23, 53).

Kolşisin ile yapılan profilaktik tedavi genellikle ateş ile seyreden akut atakları önlemekle birlikte, amiloidoz gelişimini engellemekte ve/veya proteüni şiddetini azaltmaktadır. İmmün mekanizmalar ile AAA arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, tedavi almayan AAA hastalarında tedavi alan gruba ve kontrol grubuna göre T hücre aktivitesi ve kemotaksisinde azalma görüldüğü belirtilmektedir. Amiloidoz gelişen AAA hastalarında, T hücre aktivitesi normalken, belirgin bir şekilde kemotaktik aktivite artmaktadır (89, 90).

Bazı AAA hastalarında tedavi sırasında yüksek dozlarda kolşisin kullanımına karşın, tedaviye sınırlı cevap alındığı veya hiç cevap alınamadığı gözlemlenmiştir

(91). Dolayısıyla, plazma kolşisin konsantrasyonu ile günlük kolşisin dozu arasında herhangi bir ilişki bulunmamaktadır (92). Enflamasyonun başladığı alana granülositlerin yoğunlaşması ile AAA hastalığının semptomları başlamaktadır (69). Kolşisin ile tedavi gören AAA hastalarında atak süresince, granülosit kemotaksisinde önemli oranlarda azalma gözlenmektedir (93). Yapılan bir çalışmada, pirin ekspresyonunun sadece enflamasyonun bir sonucu olmadığı ve ekspresyonunun AAA hastaları için spesifik olduğu görülmektedir (69).

Kolşisinin lökositlerde uzun süre kaldığı belirlendikten sonra, lökositlerin kolşisin için küçük bir yerleşim alanı görevi üstlendiği belirtilmiştir. Lökositlerdeki kolşisin konsantrasyonu, granülositler ve mononükleer hücreler için aynıdır. Granülosit ve mononükleer hücrelerdeki kolşisin konsantrasyonu $4-64 \cdot 10^9$ ng- $11,4-57,6 \cdot 10^9$ ng arasında değişmektedir. Vücuttaki toplam kolşisin veya plazmadaki serbest kolşisin düzeyi yükseldiği zaman, her iki lökosit populasyonu arasında hücreler arası seviye plato düzeyine erişinceye kadar yükselir. Plazma kolşisin konsantrasyonu değişkenliğinin temel nedeninin %20-80 arasında değişen kolşisin emilimi ile alakalı olduğu düşünülmektedir (92). Ayrıca, lökosit grupları arasında doymuş kolşisin dağılımı olabileceği de düşünülmektedir. Böylece, kolşisine cevap alınamayan AAA tedavilerinde, kolşisinin plazma ve hücresele seviyeleri ve düşük intralökosit seviyelerinin tedaviye alınan cevapla bir ilişkisinin bulunmadığı gösterilmektedir (80).

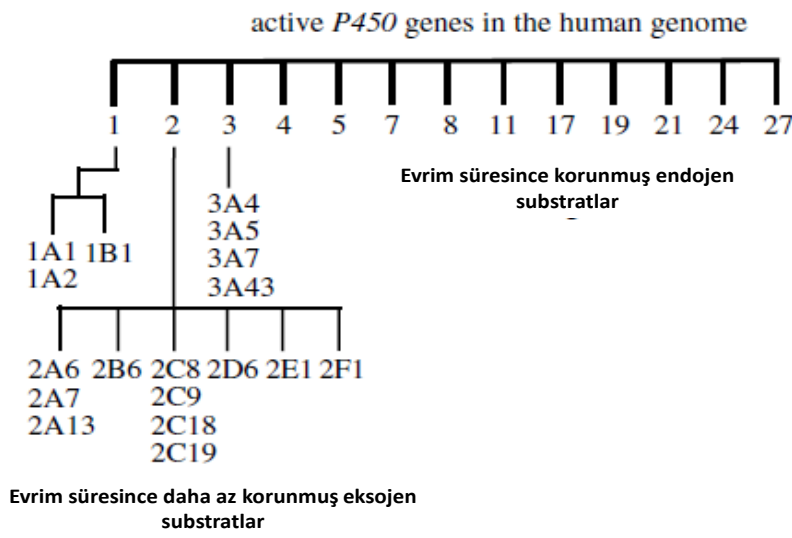
Kolşisinin terapötik aralığı ile toksik etkilerini gösterebileceği aralık oldukça dardır ve uygulanan ilacın emilimi, dağılımı, metabolizması ve atılımında bireyler arası belirgin farklılıklar bulunmaktadır (79). Kolşisinin biyoyararlanım süreci, oral alımından sonra jejunum ve ileumda başlar. Kolşisin lipofilik özellikte olması nedeniyle, birçok hücre tipi tarafından kolayca alınarak primer hedefi olan tubuline bağlanması sağlanır. Oral alımından sonra kolşisinden yararlanım %50' den azdır (79, 81, 94). Kolşisin ağırlıklı olarak safra yoluyla vücuttan elimine edilir. Kolşisinin gastrointestinal kanaldan emilimi, hücrelerde biyoyararlanımı ve safra yollarından eliminasyonu sürecinde MDR1 gibi çok sayıda gen görev almaktadır (77, 95-97).

2.13. Sitokrom P450 Enzimleri / CYP450

Sitokrom P450 (CYPs) çoğunlukla hepatositler olmak üzere ekstrahepatik dokularda da eksprese olduğu bilinen biyotransformasyon gen ailesini oluşturmaktadır (98).

2.13.1 Sitokrom P4503A4 / CYP3A4

Sitokrom P450, birçok ksenobiyotik ve endojen maddenin metabolizmasında önemli rol üstlenmektedir (98).



Şekil 2.13.1.1: İnsan genomundaki aktif P450 genleri (99).

Dikey çizgide insanlardaki farklı P450 genleri gösterilmektedir. Bu genlerden 1-3' deki enzimler ksenobiyotik mekanizmasında yer alanlar, diğerleri endojenöz substratları metabolize eden genlerdir

Bitkilerin savunma sistemleri içinde gelişen alkaloidler, organizmada birçok biyolojik olayda yer almaktadır. Bu biyolojik aktiviteler arasında çoğalan hücrelerde mikrotübüllerin, mitotik tutulma ile sonuçlanan aktivitelerinin önlenmesi de sayılabilir. Bu nedenle, antimitotik maddeler olarak da adlandırılırlar. Antimitotikler primer olarak sitokrom P450 enzimlerinin substratlarıdır. Antimitotiklerin biyotransformasyonunda etkin tedavi dozu, ilaç-ilaç etkileşimleri ve ilaca direncin gelişimi önem taşımaktadır (100, 101).

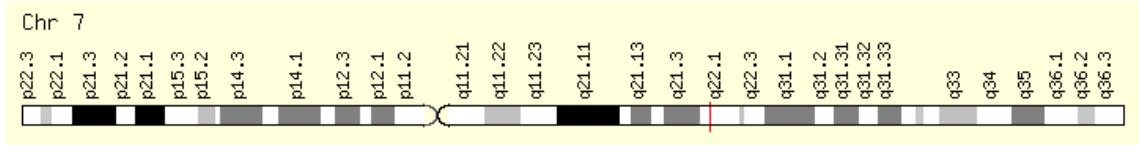
Tablo 2.13.1.1: İlaç metabolizmasında yer alan insan P450 enzim polimorfizmlerinin önemi (99)

Enzim	İlaç metabolizmasının tahmini fraksiyonu ^a (%)	Substratlar	Polimorfizmlerin klinik etkisi	Polimorfizmlerin önemi ^b
CYP1A2	5	Karsinojen ilaçlar	Raporlanmamış	+
CYP2A6	2	Nikotin, ilaçlar, karsinojen ilaçlar	Nikotin metabolizması	+
CYP2B6	2-4	İlaçlar	Efavirenz ve siklofosamid metabolizması	+
CYP2C8	1	İlaçlar	Taksol metabolizması	+
CYP2C9	10	İlaçlar	Warfarin, coumadin, anti diyabetik ilaçlar, phenytoin etkiler	+++
CYP2C19	5	İlaçlar	Proton pompası inhibitörleri citalopram etkiler	+++
CYP2D6	20-30	İlaçlar	Trisiklik antidepresanlar, antipsikotikler ve kodein tedavilerini etkiler	+++
CYP2E1	2-4	Karsinojenler, çözümler, ilaçlar	Gösterilmemiş	-
CYP3A4	40-45	İlaçlar, karsinojenler	Gösterilmemiş	-
CYP3A5	<1	İlaçlar	Gösterilmemiş	-

^aFaz I reaksiyonlarında ilaç metabolizmasının tahmini güvenilirlik fraksiyonu,

^bPolimorfizminin önemi, söz konusu enzim için substrat olan ilaçların farmakokinetiği üzerine P450 polimorfizminin etkisini gösteren raporların sayısına göre belirlenir, + işareti farklı P450 formları arasındaki göreceli önemi belirtmektedir.

CYP P450' nin insan karaciğerinde en çok bulunan formu, bütün CYP450' lerin %30' unu oluşturan, CYP3A'dır (102). İnsan CYP3A gen ailesi 7q22.1 lokusunda rastgele şekilde sıralanan CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43 olmak üzere dört üyeden oluşmaktadır (103).

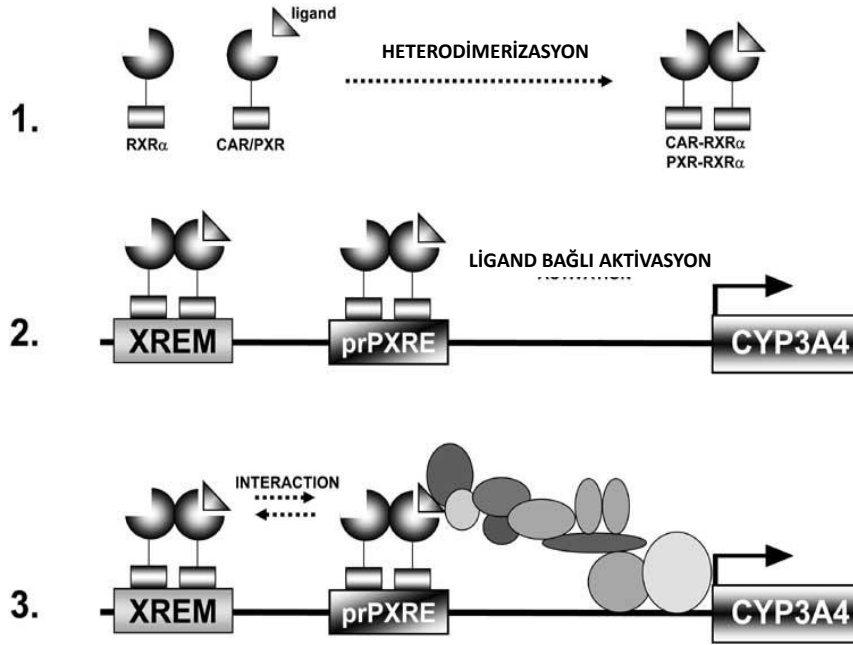


Şekil 2.13.1.2: CYP3A4’ ün geninin lokalizasyonu

(<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CYP3A4&search=MDR1>)

CYP3A genine ait cDNA’ in nükleotid sekansları birbirine benzemesine rağmen, ekspresyon profilleri farklılıklar göstermektedir (104). CYP3A4 yoğun bir şekilde insan erişkin karaciğeri ve barsağında eksprese olmaktadır (105,106). Klinikte kullanılan ilaçların %30’ undan fazlasının metabolizmasından sorumludur (107).

Karaciğerde CYP3A4 geninin ekspresyonu ve aktivitesi bireyler arası büyük farklılıklar göstermektedir (108). Bu farklılıklar aynı zamanda, ilaçların yararlılığı ve toksisitesi üzerinde etki göstereceğinden, ilaç tedavisi alan hastalarda CYP3A4’ ün ekspresyon seviyesini bilmek önemlidir. Bugüne kadar CYP3A4 geninin nükleotid diziliminde 40 polimorfizm belirlenmiştir (109). CYP3A4 ekspresyonunda bireyler arasında gözlemlenen farklılıkların birçoğunun transkripsiyonel ve genetik faktörlerin etkisi altında olduğu tahmin edilmekle birlikte, mekanizması tam olarak bilinmemektedir (104).



Şekil 2.13.1.4: Ksenokimyasallar ile CYP3A4 uyarımı (114)

Kolşisin, taksol, vinkristin ve vinblastin olmak üzere dört doğal antimitotik ajan bilinmektedir. Bu antimitotikler, yaklaşık olarak tüm ksenobiyotiklerin %50' sinin metabolizmasından sorumlu olan insan hepatik CYP3A4 enziminin substratlarıdır. Bu maddeler CYP substratları olduğu için, CYP gen ekspresyonunun indükleyicisi veya baskılayıcısıdır (100). CYP3A4' ün aktivasyonundan sonra, 2-demetilkolşisin ve 3-demetilkolşisin olmak üzere iki kolşisin metaboliti oluşmaktadır (115). Mikrotübül dağılımı anlamında ilaç ile 3-demetilkolşisin karşılaştırılabilirken, 2- demetilkolşisin' in etkisi azdır (100).

CYP genlerinin ekspresyonunun düzenlenmesi, ya direkt olarak ligandlar aracılığıyla veya indirekt olarak nükleer reseptörler aracılığıyla sağlanmaktadır. Mikrotübüllerin dağılımı antimitotik maddelerin özelliklerinden kaynaklanmakta ve reseptörlerin sitozol-nükleus trafiğini etkilemektedir. Glukokortikoid (GR) reseptör ve aril hidrokarbon (AhR) reseptörler mikrotübül distribüsyonundan etkilenmektedirler. Bu durum, hem bölünebilen hem de bölünmeyen hücrelerde olabilecek bir durumdur. GR reseptörü aynı zamanda, CYP3A4 için transkripsiyonu arttırıcı etkiye de sahiptir.

Organizmadaki CYP enzimlerinin ekspresyon düzeyleri, ilgili gen polimorfizmleri, gen regülasyonunda görev alan transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. Birçok çalışmada mikrotübül ağının karmaşıklığının, AhR ve GR reseptörlerinin transkripsiyonel aktivitesini değiştirdiği belirtilmektedir.

2.14. ABCB1

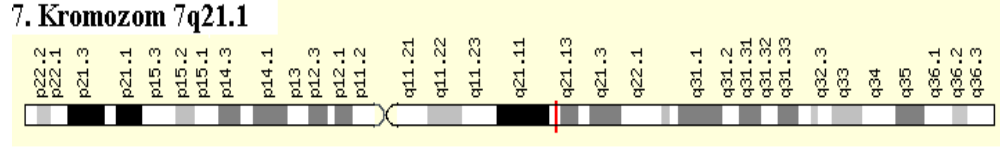
“ATP-binding cassette” (ABC) süper ailesi, P-glikoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1), çoklu ilaca dirençle ilgili protein 1 (MRP1, ABCC1), kanalikular multiorganik anyon taşıyıcısı (cMOAT, ABCC2), ve meme kanserine direnç protein/mitoksantron direnç (BCRP/MXR, ABCG2) proteinlerini kapsamaktadır (116). ABC, zar boyunca metabolik ürün, lipid, sterol ve ksenobiyotik gibi birçok maddeyi taşıyan integral membran proteinleridir. İnsan genomunda A’ dan G’ ye 7 alt aileye ayrılan 48 adet ABC proteini kodlanmaktadır (117). Kültüre edilmiş hücrelerde A, B, C ve G gruplarının ilaca gösterilen dirençten sorumlu olduğu açıkça belirtilmektedir. Her biri benzer ABC yapısına sahip olmasına rağmen, transmembran bölgelerinin farklı sayıda ve lokalizasyonda olması ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar (118).

2.14.1. Multi Drug Resistance Gene (MDR1/P-gp)

1976 yılında Juliano ve Ling, kolşisine dirençli olan hamster overinde 170 kDa’ luk bir proteinin eksprese olduğunu ve aynı proteinin ilaca-hassas olan hücrelerde eksprese olmadığını bildirmişlerdir (119). Kolşisinin hücresel geçirgenliğini değiştirdiği için bu proteine P-gp adını vermişlerdir (119). Aynı geni taşıyan bakterilerle göstermiş olduğu yüksek homolojiden dolayı, P-gp’ in hücre içi ksenobiyotik konsantrasyonunu belirleyen bir atılım pompası olduğu belirtilmiştir (120).

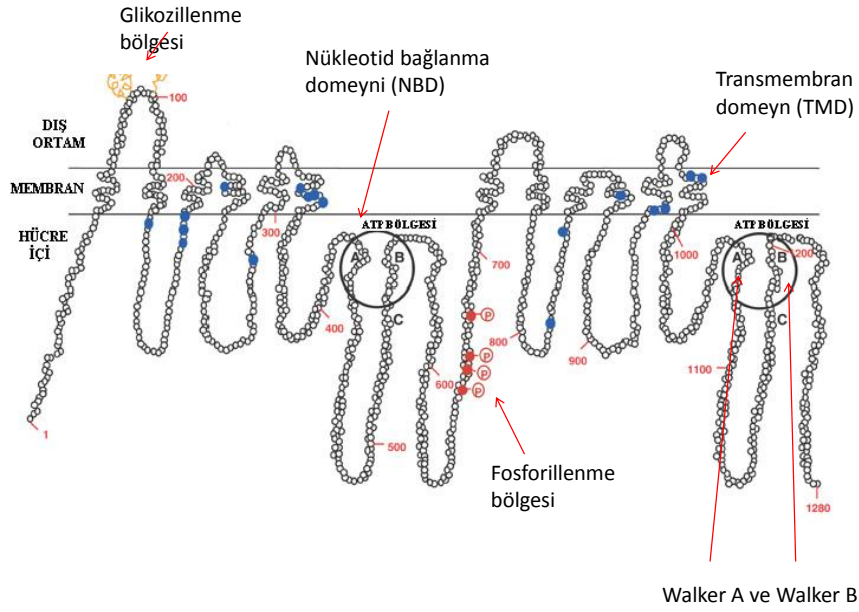
İlk olarak tümör hücrelerinde P-gp’ in ekspresyon seviyesinin arttığı ve yapısal ve mekanik olarak birbiriyle ilgili olmayan ilaçların, gösterdikleri çapraz dirençten sorumlu oldukları belirtilmiştir (121). P-gp’ i kodlayan gen 1986 yılında keşfedilmiş ve MDR1 (HUGO name: ABCB1; OMIM 171050) olarak adlandırılmıştır (122). MDR1 insan 7. inci kromozomunda 600 kb’ lık Nrul

fragmenti üzerinde p21-21.1 bantları arasında yer almaktadır (123). 28 intron ve 28 ekzona sahip olup, gen uzunluğu 209 kb' dır (124). Promotor bölgesinde TATA kutusu bulunmamaktadır. MDR1 mRNA' ı 4,7 kb' dır ve genin toplam boyutunun %5' i mRNA olarak kodlanmaktadır (125,126).



Şekil 2.14.1.1: MDR1 geninin lokalizasyonu (127)

P-gp dimer oluşturan 1280 rezidürlük polipeptid yapıdadır ve şekil itibariyle transmembranel açıklık oluşturmaktadır (128). P-gp' in yapısı altı hidrofobik transmembran domeyn (TMD), ATP bağlanması için intrasellüler bağlanma bölgesi ve nükleotid bağlama domeyninin (NBD) olduğu birbirine eş iki yarımdan oluşmaktadır. Eş yarımlar esnek bağlayıcı polipeptid ile ayrılır. TMD' lerin ilaç moleküllerinin membrandan geçişinde rol oynadığı düşünülmektedir. Kapsamlı mutasyon analizleri insan P-gp' inin iki eş kısmının tek bir taşıyıcıyı oluşturmak için etkileşime girdiğini ve major ilaç bağlanma bölgelerinin, 5, 6, 11 ve 12. inci transmembran bölgelerin içinde veya yakınında olduğunu açıklamaktadır (118,129). Proteinin amino ve karboksil terminal uçları ile NBD' ler intrasellüler alanda lokalize olmuştur. Molekölün N-terminal kısmının ekstrasellüler bölgesinde tek bir glikozillenme bölgesi vardır (130). Her bir NBD, Walker A ve B olmak üzere iki motiften meydana gelmiştir. Bu motiflerin ATPazlarda bulunduğu, nükleotidlerin bağlanması ve hidrolizinde görev aldıkları düşünülmektedir. Her iki NBD, P-gp' in normal işleyişi için gereklidir ve P-gp aktivitesi tamamen ATP varlığına bağlıdır. ATP bağlayıcı domeynler, ATPaz olarak işlev görmekte olup P-gp'in substratları membranın dışına çıkarmada gerekli enerjiyi sağlamaktadır. P-gp'in işlev görebilmesi için ATP her iki NBD' e de bağlanmakta, fakat P-gp aktivitesi için her iki ATP' nin de hidrolize olup olmadığı henüz bilinmemektedir. ATP' nin bağlanması ile P-gp' de konformasyonel değişiklikler olmakta ve hidrolizi ile de transport gerçekleşmektedir (131).



Şekil 2.14.1.2: P-gp' in iki boyutlu yapısı (118)

ABCB1 genotipinin, P-gp fonksiyonu veya ekspresyonu üzerindeki etkisi nedeniyle, bu genotipin P-gp' in substratı olan ilaçların farmakokinetiğindeki değişikliklerle de ilgili olabileceği düşünülmektedir (132). P-gp' in içerdiği transmembran segmentlerinin ilacın dışarı atıldığı bir kanal oluşturduğu ve ATP bağlanma bölgesinin ise konsantrasyon gradiyentine karşı ilacın hücre dışına çıkarılmasında gereken ATP hidrolizinde görev aldığı düşünülmektedir (133).

İlaçlara direnç, sıklıkla ilaçların hücrel birikimlerinin azalması ve P-gp olarak bilinen ATP-bağımlı ilaç atılım pompasının ekspresyonunun yükselmesi ile olmaktadır (117). ABCB1' in genotipik varyantlarının ve biyolojik önemlerinin belirlenmesi ile, ilgi noktası taşıyıcıların farmakogenetiği üzerine çekilmiştir (134). ABCB1 geninin genotipik varyantları; emilim, dağılım, metabolizma ve/veya atılım ile ilgili, ilgili gen/genlerin aminoasit rezidülerini ve/veya promotör bölgelerini ve/veya enhansır sekanslarını ve/veya mRNA stabilitesi ve/veya işlenmesini etkileyebilir (132). Dahası, genin ekzon intron sınırındaki kesime uğrayan kısımlarındaki ("splice-site") sessiz mutasyonların, splising aktivitesini değiştirebileceği gösterilmiştir (135). Alternatif olarak, P-gp ekspresyonunu veya fonksiyonunu etkileyen polimorfizmler, ABCB1 geninin dışında da lokalize olabilir. Literatürde ABC genlerini kodlayan sekanslarının, komşu ABC genlerinin regülatör

bölgeleri olabileceği ileri sürülmüştür ve böylece bir gendeki polimorfizmin diğerinin regülasyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir (132). MDR1 genindeki polimorfizmlerin belirlenmesi ile ilgili bir çalışmada, ekzon ve intronlarda 15 farklı tek nükleotid polimorfizminin (“single nucleotide polymorphism”, SNP) olduğu belirtilmiştir (134). Sonraki çalışmalarda 50 adet SNP ve üç adet insersiyon/delesyon polimorfizminin varlığı bildirilmiştir (136, 137, 138, 139). MDR1 geninin kodlayan bölgelerinden, 12. inci ekzonda yer alan sinonim polimorfizm 1236 C>T (rs1128503), 21. inci ekzonda yer alan 2677 G>T/A (Ala893Ser/Thr) (rs2032582) ve 26. ıncı ekzonda yer alan sinonim polimorfizm 3435 C>T (rs1045642) gibi bazı SNP’ ler araştırmacılar için primer odak noktasıdır (140). 3435 C>T polimorfizmi gibi, bu SNP’ lerden sadece birkaç tanesinin P-gp’ nin biyokimyasal fenotipi ve ilaç duyarlılığı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (141,142).

MDR1 geninin 26. ıncı ekzonunda yer alan 3435C>T polimorfizmi herhangi bir amino asit değişikliğine yol açmayan sessiz bir polimorfizmdir (İle-İle). Normal dokularda homozigot T/T genotipinin düşük P-gp ekspresyon seviyesi ile ilgili olduğu önceki çalışmalarda belirtilmektedir (143, 144, 145). Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada, C allel sıklığı %40, T allel sıklığı %60 olarak bildirilmektedir (146). T allel sıklık yüzdesinin fazla oluşu ile Türk popülasyonun bazı sitotoksik ajanlara karşı daha hassas olabileceği düşünülmektedir (146). 3435C>T polimorfizmi ile ilaç kullanımı/dağılımı arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bir hipoteze göre, 3435C>T polimorfizminin alternatif splicing oluşturduğu ve bunun sonucunda yabancı tip P-gp ile kıyaslandığında daha kısa bir protein meydana geldiği belirtilmiştir (118). Bazı popülasyonlarda çoğunlukla 3435C>T pozisyonundaki polimorfik alelin, P-gp ekspresyonunu etkileyen başka polimorfizmlerle (G2677A/T ve T-129C) bağlantılı olduğu gözlenmiştir (118). 3435C>T polimorfizminin, mRNA işlenmesi ile ilgili diziler, promotor veya enhansır bölgeler gibi ekspresyonu kontrol eden MDR1 gen bölgelerinde gözlenen değişimlerle ilişkili olduğu, posttranskripsiyonel modifikasyonları etkilediği ve mRNA’ nın translasyonel kontrolünü değiştirdiği düşünülmektedir (147, 148).

3435C>T polimorfizmine ilişkin Hoffmeyer ve arkadaşlarının (147) yaptığı çalışmada, TT genotipine sahip bireylerde intestinal P-gp ekspresyonunun azaldığı

ve dolayısıyla digoksin ilaç alınımının arttığı, CC genotipindeki bireylerde ise P-gp ekspresyonunun arttığı ve dolayısıyla digoksin ilaç alınımının da azaldığı gözlenmiştir.

2677G>T ve 2677G>A polimorfizmleri 21. inci ekzonda lokalize olmuştur. 2677. inci pozisyonundaki G→T ve G→A dönüşümleri anlamsız mutasyonlardır ve P-gp intrasellüler kısmında yer almaktadırlar. 2677. inci pozisyonunda alaninin threonin veya serin ile yer değiştirmesi nedeniyle, lipofilik rezidü hidrofilik rezidüye dönüşmektedir ve alanin yapısal olarak nötral bir aa olduğu için, yeni oluşan serin aa' i geometrik yapıyı değiştirmektedir (144). Bu polimorfizm için homozigot T/T genotipine sahip bireylerin, P-gp ekspresyon seviyelerinin düşük olduğu belirtilmektedir (144). Önceki çalışmalarda, Türk populasyonunda G allel sıklığının fazla olduğu bildirilmiştir (144, 149). Bu da bazı sitotoksik ajanlara karşı daha dirençli olunabileceğini düşündürmektedir (146).

T-129C polimorfizmi, MDR1 geninin 1b ekzonunda ve transkripsiyon başlama bölgesinin 7 kb aşağısında yer almaktadır (144). Promotör bölgesindeki kritik yeri, P-gp ekspresyonu ile ilgili önemli ipuçları sağlamaktadır. Türk populasyonunda homozigot T/T genotipinin, C/C genotipine göre çok yüksek olduğu belirlenmiştir. Literatürde bu polimorfizm için heterozigot olan bireylerde, düşük P-gp ekspresyon aktivitesi olduğu belirtilmektedir (144).

P-gp klinik olarak önemli birçok ilacın emilim, dağılım, metabolizma ve atılım-toksik profillerinin yer aldığı hidrofobik ekzojenöz substratların major belirleyicilerinden biri olarak sayılmaktadır. P-gp substratları, doku ekspresyon profilleri ve fizyolojik rolleri ile çok geniş bir alana yayılmaktadır (140). İnsanlarda P-gp, normal fonksiyonu gereği endojenöz ve ekzojenöz hidrofobik ve amfipatik toksinlerin atılımını yerine getirmek için eksprese olur (146). Normal dokulardaki ekspresyonu, toksik maddelere karşı hücreyi korumaktadır. İntestinal epitel hücrelerinde (147), safra yolları ve hepatositlerde (150), böbreğin proksimal tübülünde (150), kan-beyin bariyerinde (151) ve plasentada (144) olmak üzere birçok normal dokuda eksprese olmaktadır. P-gp eksprese eden dokularda görülen hastalıklarda, tedaviye direnç gelişebilir veya hasarlı hücreler aracılığıyla ilaç direnci oluşabilir (117). P-gp, ilaçların oral alındıktan sonraki absorpsiyonunu, renal klirensini ve hedef organa nüfuzunu sınırlandırarak farmakokinetiğini etkilemektedir

(132). P-gp' nin ekspresyonun veya fonksiyonunun yüksek olduğu bireylerde, ilaçların oral biyoyararlanımında azalma, plazma konsantrasyonunda azalma ve renal klirensde artma, beklenmektedir (132).

MDR1/P-gp regülasyonu oldukça kompleksdir ve normal dokular ve kanser hücrelerinde farklı regülatuar sistemler dahilinde bulunmaktadır (132). MDR1 genlerinin, transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyelerde regülasyonu hücre büyümesi, farklılaşması ve homeostazis gibi hücre sinyal yollarına bağlıdır (152). Kanser hücrelerinin genomik kararsızlığı, MDR1 gen amplifikasyonuna ve/veya MDR1 lokusunun kromatin yapısının şekillenmesine neden olarak, MDR1' in normalden fazla eksprese olmasına ve/veya MDR1 geninin aktivasyonuna neden olmaktadır (132). Mutasyonlar ile transkripsiyon faktörlerinin aktivite ve ekspresyonu değişebilmekte ve genin yeniden düzenlenimleri MDR1 geni ile aktif promotörünü birbirine yakın ya da bitişik pozisyona değiştirebilmektedir (132, 153). Direnç ile ilgili çalışmalarda, incelenen hücre hatlarında MDR1 geninde amplifikasyonların var olduğu belirlenmiştir (132).

Kanser hücrelerinde MDR1 ekspresyonunun arttığı, transkripsiyonel aktivasyonun varlığı ile belirlenmiştir (154). Normal hücrelerdeki transkripsiyonel mekanizma sıklıkla, MDR1' in promotör bölgesindeki DNA bağlanma motifleri ile açıklanabilmektedir. MDR1 geninin promotöründe TATA box bulunmamakta ve transkripsiyon kompleksi başlatıcı element ile kontrol edilmektedir. MDR1 promotörü üzerinde etkili olan transkripsiyon faktörleri; “inverted CCAAT-box (Y-box)” bağlanma proteini (NF-Y, YB-1), “CAAT-box interacting” proteinleri (c-fos, NF-kappa B) ve “GC-box interacting” proteinleri (Sp1-3, EGR1, WT1) gibi major gruplara ayrılmaktadır (155). Yapılan çalışmalarda, her iki “inverted CCAAT-box” ve GC-zengin elementlerin, MDR1' in indüklenebilir veya konstitutif ekspresyonunda rolü olduğu belirtilmiştir (117,155).

Çoklu ilaca direnç, ilaç tedavilerinin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olan en ciddi problemlerdendir ve çok sayıda ilaç direncine neden olan biyolojik faktörler arasında, atılım sistemlerinin indüksiyonu veya baskılanması, enzim inaktivasyonunun indüklenmesi, hedef enzimlerinin yapısal anlamda değişmesi, DNA tamir süreçlerindeki değişiklikler ve apoptotik sinyal yollarında değişimler sayılmaktadır (156-162).

İntestinal dokudaki MDR1 genleri, barsak membranından MDR substratlarının emilimini sınırlandırmaktadır (163). Renal proksimal tübüldeki lümenal membrana lokalize MDR1 geni, substratların üriner sekresyonunu hızlandırmaktadır. Böylece vücutta eksprese olan MDR1, MDR1 ile ilişkili substratları olan ilaçların farmakokinetiğini düzenlemektedir (164).

Kolşisin, P-gp' nin substratıdır. Genel olarak, ilaç taşıyıcıları ve ilaç metabolizmasından sorumlu olan sitokrom P450 enzimleri ilaçların farmakokinetiğinin belirlenmesinde görevli iki major biyolojik faktörü oluşturmaktadır (163). Her iki biyolojik faktör de belli substratlara spesifik olarak görev almaktadır (163, 47). Yakın bir tarihte, steroid ve ksenobiyotik reseptörü olan SXR' ın, ayrıca (PXR, PAR, PRR veya NR112) olarak bilinen “orphan nükleer” reseptörünün hem MDR1 hem de CYP3A4 ekspresyonunda görev aldığı bildirilmiştir (165).

Kolşisin yüksek konsantrasyonlarda nötrofillerde birikmektedir. MDR geni ile ilgili yapılan çalışmalarda, P-gp membranal pompasının nötrofillerden yoksun olduğu belirtilmektedir (165).

MDR1 ayrıca hematopoietik kök hücrelerde, doğal öldürücü hücrelerde (NK), lökositlerde, antijen bulunduran dendritik hücrelerde, T ve B lenfositlerinde eksprese olmaktadır (163-167). Bu durum MDR1' in, ksenobiyotiklerin atılımını kolaylaştırmanın yanı sıra, MDR1' in ve diğer taşıyıcı sistemlerin apoptozis ve immünolojinin regülasyonunda da temel bir rol aldığını göstermektedir (168, 169).

Apoptozis, hücredeki birçok fizyolojik ve patolojik durumda gerçekleşen hücre ölümüdür. MDR1' in apoptozisi düzenlediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (170-172). Fakat bunların çok azı MDR1' in apoptozisteki rolünü açıklayıcı niteliktedir. Birkaç çalışmada, sitotoksik ilaçlar ile indüklenen kaspaza bağlı apoptoziste MDR1' in koruyucu rolü olduğu ileri sürülmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre, MDR1 apoptotik stimuluslar ile düzenlenmekte, kaspaza bağlı apoptotik sinyallerle baskılanmakta ve muhtemelen mitokondrial yolak ile kontrol edilmektedir (172).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmaya Abant İzzet Baysal Üniversitesi Araştırma Hastanesi Romatoloji Anabilim Dalı'nda takip edilen ve Tel-Hashomer kriterlerine göre AAA tanısı alan 16 yaş üzerinde, CYP3A4 ve MDR1/P-gp' in ekspresyonunu indükleyen veya inhibe eden bilinen herhangi bir ilaç almadığı belirtilen 78 hasta (yaş ortalamaları 33,24±12,315) dahil edildi.

Hastaların seçimi

Hastalara Tel Hashomer kriterlerine göre AAA tanısı konulduktan sonra Pras skorlama sistemine göre klinik olarak AAA' nin ciddiyeti puanlandırıldı.

Tablo 3.1.1: PRAS Ciddiyet Skorlaması (48)

Ciddiyet derecesi	Başlangıç yaşı (yıl)	Bir ayda geçirilen atak sayısı	Artrit	Erizipel benzeri eritem	Amiloidoz	Kolşisin dozu (mg/gün)
0	>31					
1	21-31	<1				1
2	11-20	1-2	Akut	+		1,5
3	6-10	>2	Uzamış		+	2
4	<6					>2*

*günlük 2 mg doza duyarlı

3.2. Yöntem

3.2.1. EDTA' lı kandan DNA izolasyonu

Hastaların etilendiamintetrasetik asit (EDTA)'li tüpe alınmış 3 ml periferik venöz kanlarından DNA izolasyon kiti (Vivantis, Malezya) kullanılarak genomik DNA' leri izole edildi.

3.2.2. MEFV gen analizi

MEFV geninde en sık görülen 5 mutasyon (M694V, M680I, M694I, V726A, E148Q) "Real-Time polimerase chain reaction" (Real-time PCR) kullanılarak (Dr. Zeydanlı, Türkiye) analiz edildi. Her bir mutasyon bölgesi için normal ve mutant mikslardan 20,5 µl master miks ve 0,3 µl Hot Start Taq DNA polimeraz eklendikten sonra 4,5 µl (~10-100 ng) genomik DNA eklendi. Real-time PCR'da 95 °C'de 10 dk.

denatürasyon sonrasında, 95 °C’de 15 sn., 62 °C’de 1 dk. annealing aşamasının 32 siklus uygulandığı protokol ile çalışıldı.

3.2.3. PCR yöntemi ile ilgili MDR1 gen bölgelerinin eldesi

78 hastanın genomik DNA’ i, 3435C>T primer bölgesi için PCR ile amplifiye edildikten sonra uygun restriksiyon enzimi ile “restriction fragment length polymorphism” (RFLP) yöntemi esas alınarak genotiplendirildi.

MDR1 gen bölgeleri, uygun primerler kullanılarak PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Seçilen primerler ile istenilen fragmentler elde edildikten sonra (Resim 3.2.5.1), PCR ürünü uygun restriksiyon endonükleazlar ile uygun koşullarda muamele edilerek polimorfik bölgelerin kesilmesi sağlandı. Genotipleri belirleyecek olan ürünler etidyum bromid ile boyanmış agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve UV ışık altında görüntülendi (Resim 3.2.5.2).

48 hastada CYP3A4 gen bölgesi polimorfizmleri, tam otomatize mikroarray tabanlı INFINITY™ (Autogenomics, Inc., Vista, CA) analizörü kullanılarak değerlendirildi. Bu yöntemle MDR1 geni için, (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T ve 3435C>T, *1B (-392A>G), *2 (15713T>C), *3 (23171T>C), *12(21896C>T) ve *17(15615T>C) polimorfizmlerinin moleküler genotiplemleri yapıldı.

INFINITY™ sistem niteliksel ve niceliksel birçok proteomik ve genomik uygulamada, hastalığa özgü BioFilmChip Microarray kullanan tam otomatik, çoklu moleküler tanı platformudur. Allel spesifik primer uzaması (“Allel Specific Primer Extension”, ASPE) temeline dayanır ve floresan sinyaller ile kantifikasyon sağlanmaktadır. PCR işleminden sonra, hedef DNA uzama primerleri ile birleşir. Her bir primerin 3’ ucu ‘no variant’ allel veya hedef zincirin varyant SNP nükleotidine komplementer sekans içermektedir. Primer ve hedef arasında gerçek bir eşleşme olduğu zaman ASPE gerçekleşmektedir. Primer uzaması esnasında, floresanla işaretlenmiş “deoxycytidine triphosphate” ürüne dahil olmaktadır. Floresan sinyali her bir primerin 5’ ucunda, insan kaynaklı olmayan sekans (antizipcode) sayesinde tespit edilmesi sonucu belirlenir. Her bir antizipcode BioFilmChips™’ e lokalize komplementer yakalama probuna sahiptir.

PCR için gerekli malzemeler:

DNA (100ng/μl)

10 x PCR tamponu (KCL veya NH₄SO₄)

MgCl₂ (25 mM veya 50 mM)

dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)

Forward ve Reverse Primer

Taq DNA Polimeraz

H₂Odd

UV altında görüntüleme yapmak için %2' lik Agaroz jel kullanıldı.

Kullanılan primerlerin sekansları;

3435C>T:

Forward: 5'..ACTCTTGTTTTCAGCTGCTTG ..3'

Reverse: 5'..AGAGACTTACATTAGGCAGTGACT ..3'

Primerlerin solüsyon haline getirilmesi

Primerler bidistile su ile 100 pmol (pikomol) stok solüsyon hazırlandıktan sonra, tekrar bidistile su ile 1:10 dilüe edilerek kullanıma hazır hale getirildi.

Primerler için optimal bağlanma ısısı; T_m: 4 x (G+C) + 2 x (T+A) – 5 formülü ile hesaplandı.

PCR programı

Her bir primerin optimizasyonu için kullanılan PCR koşulları farklılıklar göstermekle birlikte aynı evrelerden oluşmaktadır:

1- Denatürasyon: Çift zincir DNA'yı primerlerle bağlanabilmek üzere açmak için uygulanan yüksek ısıdır.

2- Annealing: Primerlerin uygun ısısında DNA zincirlerine bağlandığı basamaktır.

3- Ekstansiyon: DNA'ya bağlanan primerlerin komplementer zincir oluşturduğu uzama evresidir. Süresi ürünün baz çifti (bp) uzunluğuna göre değişmektedir.

Siklus sayısı: Üç aşamanın tekrarlarından oluşan ortalama 28–35 döngüden oluşmaktadır.

3.2.4. PCR ürününün %2' lik agaroz jel' de görüntülenmesi

%2' lik Agaroz jel' in hazırlanması

2 g Agaroz, 100 ml 1 x TBE tamponu ile karıştırıldı ve 600 watt' da 3–4 dk. mikrodalga fırında kaynatıldı. 10µg/ml etidyum bromid eklendi ve elektroforez tankına döküldü, taraklar yerleştirildi ve jel polimerize olduktan sonra ampikonlar kuyulara yüklenip elektrik akımı altında yürütüldü.

Elektroforez tamponu olarak 1 x TBE kullanıldı.

10 x TBE' den 100 µl 10 x TBE üzerine 900 µl bidistile su eklenerek 1 x TBE elde edildi.

Moleküler ağırlık belirleyici olarak 6 x Loading dye kullanıldı.

3.2.5. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleazlar ile kesilmesi

3435C>T gen bölgesi için MboI restriksiyon enzimi kullanıldı.

MboI enziminin kesim noktası;

5'.. /GATC..3' (3'..CTAG/..5') ' dir.

MboI restriksiyon enzimi ile genotiplemede kullanılan malzeme ve miktarları:

Ampikon: 17 µl

MboI: 1.3 µl

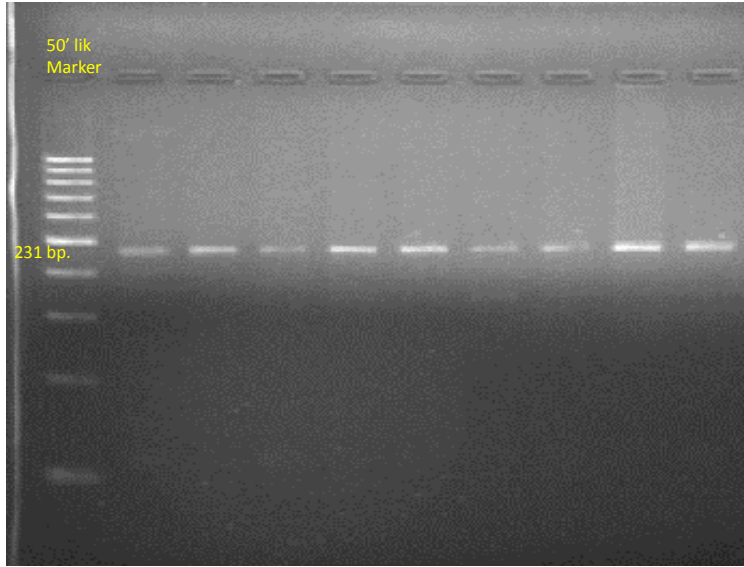
Tampon: 5 µl

H₂Odd: 4 µl

37⁰C' de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

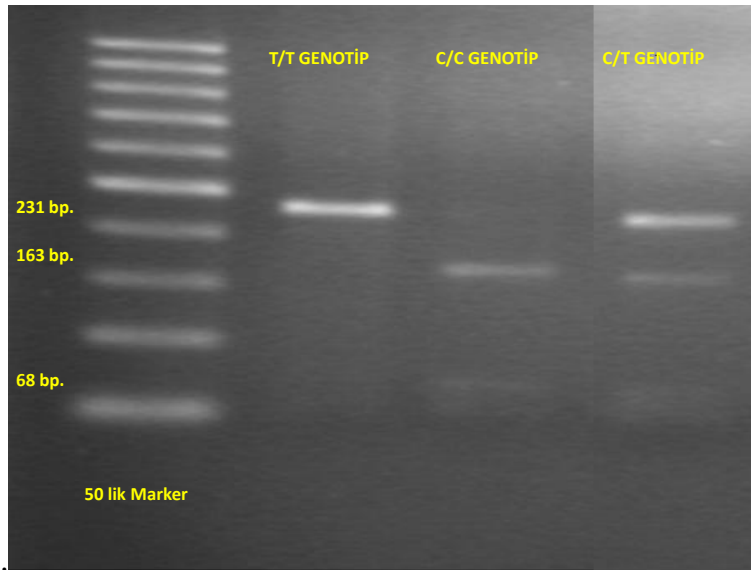
Restriksiyon enzimi ile kesim aşamasından sonra elde edilen ürünler % 2' lik agaroz jelde görüntülendi.

3.2.6. Agaroz jel görüntüsünün değerlendirilmesi



Resim 3.2.6.1: 3435C>T gen bölgesinin ampikon uzunluğu jel görüntüsü

Ampikon uzunluğu: 231 bp



Resim 3.2.6.2: 3435C>T genotiplerinin agaroz jel görüntüsü

C/C: 163 bp; C/T: 231bp, 163 bp, 68 bp; T/T: 231 bp

3.3. İstatistiki Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde "SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0" paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Sürekli değişkenler *t testi*, kategorik değişkenler *ki kare (chi square)* testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arasında parametrik testlerin

karşılaştırılmasında *ANOVA testi* ve post hoc olarak *Tukey testi* kullanıldı, nonparametrik değerlerin ve yüzdelerin karşılaştırılmasında *Kruskal-Wallis* ve *chi-square testi* kullanıldı. Tüm testlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tüm hastaların yaş ortalamaları ($n=78$) $33,24 \pm 12,315$ idi. Kadınların yaş ortalamaları ($n=44$) $30,95 \pm 12,601$. Erkeklerin yaş ortalamaları ($n=34$) $36,21 \pm 11,44$ idi. Kadın ve erkek hastaların yaş ortalamaları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktaydı ($p=0,27$). Hastalarımız arasındaki kadın erkek oranı 1,34 (44/34) olmakla birlikte, cinsiyetler arasında anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0,02$).

Hastaların ortalama olarak semptomlarının başlama yaşı $16,5 \pm 11$ idi. Bu semptom başlangıç yaşı kadınlarda $14,5 \pm 9,34$ iken, erkeklerde $19 \pm 13,7$ idi.

Çalışma grubumuzdaki hastaların klinik özelliklerinin kadın ve erkek cinsiyette görülme sıklığına göre farklılıkları tablo 4.1’ de bulunmaktadır.

Tablo 4.1 Cinsiyete göre klinik özelliklerin dağılımı

Klinik özellikler	Kadın (%)	Erkek (%)	<i>p</i> değeri
Ateş	84,1 (n=37)	85 (n=29)	0,88
Peritonit	95,5 (n=42)	100 (n=34)	0,21
Plörit	9,1 (n=4)	17,6 (n=6)	0,26
Artrit	43,2 (n=19)	38,2 (n=13)	0,66
Eritem	20,5 (n=9)	2,9 (n=1)	0,02*
Amiloidoz	- (n=0)	2,9 (n=1)	0,25
Proteinüri	2,3 (n=1)	11,7 (n=4)	0,09
Splenomegali	9,1 (n=4)	2,9 (n=1)	0,27
Apendektomi	31,8 (n=14)	29,4 (n=10)	0,82

Hastalarımızda kadın ve erkek cinsiyetler arasında eritem varlığı istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,02$) iken, diğer semptomların varlığında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamaktaydı.

Çalışma grubumuzda MDR1 geni T-129C polimorfizmi non informatifti. Bu nedenle, hastalar MDR1 geni 3435C>T polimorfizmi açısından değerlendirilebildi. Hastalarımızda 3435C>T polimorfizminin genotipleri, homozigot C/C %1,3, homozigot T/T %41 ve heterozigot C/T %51,3 oranlarında idi. 3435C>T genotiplerinin cinsiyetlere göre dağılımları, C ve T allel sıklıkları tablo 4.2’ de bulunmaktadır.

Tablo 4.2: Cinsiyete göre C3435T genotiplerinin dağılımları

Hastalar	C3435T genotipleri (%)			Allel sıklıkları (%)	
	C/C	C/T	T/T	C	T
Kadın	2,3 (n=1)	54,5 (n=24)	36,4 (n=16)	31,7 (n=26)	68,3 (n=56)
Erkek	- (n=0)	47,1 (n=16)	47,1 (n=16)	25 (n=16)	75 (n=48)

Cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 3435C>T polimorfizminin C/C, T/T ve C/T genotipleri, sırasıyla %1,4, %43,8 ve %54,8 oranlarında bulundu. C allel sıklığını %28,8 ve T allel sıklığı %71,2 idi. Cinsiyetler arasında 3435C>T genotiplerinin dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı (p=0,305).

Tablo 4.3: Cinsiyete göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımları

Hastalar	MEFV gen mutasyonları (%)				
	M694V	M694I	M680I	V726A	E148Q
Kadın	59,1 (n=26)	2,3 (n=1)	25,1 (n=11)	20,5 (n=9)	11,4 (n=5)
Erkek	67,6 (n=23)	2,9 (n=1)	23,5 (n=8)	23,5 (n=8)	20,6 (n=7)
p değeri	0,449	0,820	0,972	0,684	0,218

Tablo 4.4: Aile hikayesi varlığına göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımı

		MEFV gen mutasyonları (%)				
		M694V	M694I	M680I	V726A	E148Q
	Var	36 (n= 28)	1 (n= 1)	21 (n= 16)	12 (n= 9)	6 (n= 5)
Aile Öyküsü	Yok	28 (n= 22)	1 (n= 1)	4 (n= 3)	10 (n= 8)	8 (n= 6)
	p değeri	0,34	0,79	0,01*	0,98	0,48

MEFV gen mutasyonları bulunan hastalarda aile hikayesi varlığı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında M680I mutasyonu bulunan hastalarda anlamlı farklılık vardı (p=0,01).

Tablo 4.5: Aile hikayesi varlığına göre C3435T genotiplerinin dağılımı

		3435C>T genotipleri (%)			
		C/C	C/T	T/T	Toplam
	Var	2,2 (n= 1)	54,6 (n= 24)	43,2 (n= 19)	100 (n= 44)
Aile Hikayesi	Yok	- (n= 0)	55,2 (n= 16)	44,8 (n= 13)	100 (n=29)

Çalışma grubumuzdaki hastalarda 3435C>T genotipleri ile aile hikayesi varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktaydı (p=0,81).

Tablo 4.6: Kolşisin uygulama dozuna göre 3435C>T genotiplerinin dağılımı

Kolşisin uygulama dozu	3435C>T genotipleri (%)			Toplam (%) (n=73)
	C/C	C/T	T/T	
1x1	- (n=0)	- (n=0)	100 (n=2)	100 (n=2)
2x1	2,8 (n=1)	48,6 (n=18)	48,6 (n=18)	100 (n=37)
3x1	- (n=0)	62,5 (n=20)	37,5 (n=12)	100 (n=32)
4x1	- (n=0)	100 (n=2)	- (n=0)	100 (n=2)

Çalışma grubumuzdaki hastalarda kolşisin uygulama dozu ile 3435C>T genotipik varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktaydı (p=0,13).

Tablo 4.7: Kolşisin uygulama dozuna göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımı

MEFV gen mutasyonları		Kolşisin uygulama dozu (%)				Toplam
		1x1	2x1	3x1	4x1	
M694V	Heterozigot	6,6	56,7	36,7	-	100
		(n= 2)	(n= 17)	(n= 11)	(n= 0)	(n= 30)
	Homozigot	-	36,8	57,9	5,3	100
		(n= 0)	(n= 7)	(n= 11)	(n= 1)	(n= 19)
V726A	Heterozigot	-	37,5	62,5	-	100
		(n= 0)	(n= 6)	(n= 10)	(n= 0)	(n= 16)
	Homozigot	-	-	100	-	100
		(n= 0)	(n= 0)	(n= 1)	(n= 0)	(n= 1)
M680I	Heterozigot	-	43,8	50	6,2	100
		(n= 0)	(n= 7)	(n= 8)	(n= 1)	(n= 16)
	Homozigot	-	66,7	33,3	-	100
		(n= 0)	(n= 2)	(n= 1)	(n= 0)	(n= 3)
E148Q	Heterozigot	8,3	66,7	25	-	100
		(n= 1)	(n= 8)	(n= 3)	(n= 0)	(n= 12)
	Homozigot	-	-	-	-	-
		(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)
M694I	Heterozigot	-	100	-	-	100
		(n= 0)	(n= 2)	(n= 0)	(n= 0)	(n= 2)
	Homozigot	-	-	-	-	-
		(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)	(n= 0)

Hastalarımıza uygulanan kolşisin dozu ile MEFV gen mutasyonlarının dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı (M694V mutasyonu için $p=0,589$, V726A mutasyonu için $p=0,161$, M680I mutasyonu için $p=0,699$, E148Q mutasyonu için $p=0,307$, M694I mutasyonu için $p=0,610$).

Tablo 4.8: Hastaların klinik bulgularına göre MEFV gen mutasyonlarının dağılımı

MEFV gen mutasyonları		Ateş * (%)		Peritonit (%)		Eritem (%)		Plörit (%)		Artrit (%)		Apendektomi (%)		Splenomegali ** (%)		Yan etki (%)	
		Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
		(n=12)	(n=64)	(n=2)	(n=74)	(n=66)	(n=10)	(n=67)	(n=9)	(n=44)	(n=32)	(n=52)	(n=24)	(n=71)	(n=5)	(n=61)	(n=15)
M694V **	W	33,3	36	-	36,5	36,4	30	38,8	11,1	36,3	34,4	42,4	20,8	38	-	34,4	40
		(n=4)	(n=23)	(n=0)	(n=27)	(n=24)	(n=3)	(n=26)	(n=1)	(n=16)	(n=11)	(n=22)	(n=5)	(n=27)	(n=0)	(n=21)	(n=6)
	HT	41,7	39	100	37,8	44	10	35,8	66,7	47,7	28,1	28,8	62,5	39,4	40	39,4	40
		(n=5)	(n=25)	(n=2)	(n=28)	(n=29)	(n=1)	(n=24)	(n=6)	(n=21)	(n=9)	(n=15)	(n=15)	(n=28)	(n=2)	(n=24)	(n=6)
	HM	25	25	-	25,7	19,6	60	25,4	22,2	16	37,5	28,8	16,7	22,6	60	26,2	20
		(n=3)	(n=16)	(n=0)	(n=19)	(n=13)	(n=6)	(n=17)	(n=2)	(n=7)	(n=12)	(n=15)	(n=4)	(n=16)	(n=3)	(n=16)	(n=3)
V726A	W	75	78	50	78,4	74,3	100	80,6	55,6	72,7	84,4	78,8	75	76	100	78,7	73,3
		(n=9)	(n=50)	(n=1)	(n=58)	(n=49)	(n=10)	(n=54)	(n=5)	(n=32)	(n=27)	(n=41)	(n=18)	(n=54)	(n=5)	(n=48)	(n=11)
	HT	25	20,4	50	20,3	24,2	-	18	44,4	27,3	12,5	19,2	25	22,5	-	19,7	26,7
		(n=3)	(n=13)	(n=1)	(n=15)	(n=16)	(n=0)	(n=12)	(n=4)	(n=12)	(n=4)	(n=10)	(n=6)	(n=16)	(n=0)	(n=12)	(n=4)
	HM	-	1,6	-	1,3	1,5	-	1,4	-	-	3,1	2	-	1,5	-	1,6	-
		(n=0)	(n=1)	(n=0)	(n=1)	(n=1)	(n=0)	(n=1)	(n=0)	(n=0)	(n=1)	(n=1)	(n=0)	(n=1)	(n=0)	(n=1)	(n=0)
E148Q	W	83,3	84,4	100	83,8	81,8	100	82	100	79,5	90,6	86,5	79,2	83	100	85,2	80
		(n=10)	(n=54)	(n=2)	(n=62)	(n=54)	(n=10)	(n=55)	(n=9)	(n=35)	(n=29)	(n=45)	(n=19)	(n=59)	(n=5)	(n=52)	(n=12)
	HT	16,7	15,6	-	16,2	18,2	-	18	-	20,5	9,4	13,5	20,8	17	-	14,8	20

		(n=2)	(n=10)	(n=0)	(n=12)	(n=12)	(n=0)	(n=12)	(n=0)	(n=9)	(n=3)	(n=7)	(n=5)	(n=12)	(n=0)	(n=9)	(n=3)
	HM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)
M680I*	W	100	70,4	100	74,3	19,7	30	76,1	66,7	79,5	68,8	78,8	66,7	76	60	77	66,7
		(n=12)	(n=45)	(n=2)	(n=55)	(n=13)	(n=3)	(n=51)	(n=6)	(n=35)	(n=22)	(n=41)	(n=16)	(n=54)	(n=3)	(n=47)	(n=10)
	HT	-	25	-	21,6	3	10	20,9	22,2	16	28,1	19,2	25	19,8	40	18	33,3
		(n=0)	(n=16)	(n=0)	(n=16)	(n=2)	(n=1)	(n=14)	(n=2)	(n=7)	(n=9)	(n=10)	(n=6)	(n=14)	(n=2)	(n=11)	(n=5)
	HM	-	4,6	-	4,1	-	-	3	11,1	4,5	3,1	2	8,3	4,2	-	5	-
		(n=0)	(n=3)	(n=0)	(n=3)	(n=0)	(n=0)	(n=2)	(n=1)	(n=2)	(n=1)	(n=1)	(n=2)	(n=3)	(n=0)	(n=3)	(n=0)
M694I	W	91,7	98,4	100	97,3	97	100	97	100	97,7	96,7	96,1	100	97,2	100	96,7	100
		(n=11)	(n=63)	(n=2)	(n=72)	(n=64)	(n=10)	(n=65)	(n=9)	(n=43)	(n=31)	(n=50)	(n=24)	(n=69)	(n=5)	(n=59)	(n=15)
	HT	8,3	1,6	-	2,7	3	-	3	-	2,2	3,1	3,9	-	2,8	-	3,3	-
		(n=1)	(n=1)	(n=0)	(n=2)	(n=2)	(n=0)	(n=2)	(n=0)	(n=1)	(n=1)	(n=2)	(n=0)	(n=2)	(n=0)	(n=2)	(n=0)
	HM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)	(n=0)

MEFV geninde bakılan mutasyonlar açısından normal allel W ("wild"), heterozigot allel HT, homozigot allel HM ile gösterilmiştir.

Apendektomi öyküsü, peritonit, plörit, artrit, eritem, amiloidozis, yan etki varlığı ile MEFV gen mutasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmazken, ateş ile M680I mutasyonu arasında ($p=0,03$) ve splenomegali ile M694V mutasyonu arasında ($p=0,04$) anlamlı bir ilişki bulunmaktaydı.

Tablo 4.9: Hastaların klinik bulgularına göre 3435C>T genotiplerinin dağılımı

Klinik bulgular		3435C>T genotipleri (%)		
		T/T	C/T	C/C
Ateş	Var (n=63)	44,5 (n=28)	54 (n=34)	1,5 (n=1)
	Yok (n=10)	40 (n=4)	60 (n=6)	- (n=0)
Peritonit	Var (n=71)	42,2 (n=30)	56,3 (n=40)	1,5 (n=1)
	Yok (n=2)	100 (n=2)	- (n=0)	- (n=0)
Eritem	Var (n=10)	20 (n=2)	80 (n=8)	- (n=0)
	Yok (n=63)	47,6 (n=30)	50,8 (n=32)	1,6 (n=1)
Plörit	Var (n=10)	30 (n=3)	70 (n=7)	- (n=0)
	Yok (n=63)	46,2 (n=29)	52,3 (n=33)	1,5 (n=1)
Artrit*	Var (n=32)	31,3 (n=10)	65,6 (n=21)	3,1 (n=1)
	Yok (n=41)	53,6 (n=22)	46,4 (n=19)	- (n=0)
Apendektomi	Var (n=21)	47,6 (n=10)	52,4 (n=11)	- (n=0)
	Yok (n=52)	42,3 (n=22)	55,8 (n=29)	1,9 (n=1)
Splenomegali	Var (n=5)	20 (n=1)	80 (n=4)	- (n=0)
	Yok (n=70)	44,3 (n=31)	51,4 (n=36)	4,3 (n=3)
Yan etki	Var (n=15)	53,3 (n=8)	46,7 (n=7)	- (n=0)
	Yok (n=58)	41,4 (n=24)	56,9 (n=33)	1,7 (n=1)

Apendektomi öyküsü, ateş, peritonit, plörit, eritem, amiloidozis, splenomegali, yan etki varlığı ile 3435C>T genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmazken, artrit ile 3435C>T polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktaydı (p=0,04).

Hastalarımıza klinik değerlendirme sırasında uygulanan Pras skorları ile MDR1 genotipleri arasında (p=0,07) ve MEFV gen mutasyonlarından E148Q arasında (p=0,006) istatistiksel olarak anlamlı fark vardı.

Tablo 4.10: Klinik bulgularına göre hastalığın ciddiyet skorlaması

Cinsiyet	Hastalığın ciddiyet skorlaması (puan)*										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kadın											
%	-	3	-	10	9	10	5	8	3	4	3
(n=42)	(n=0)	(n=2)	(n=0)	(n=8)	(n=7)	(n=8)	(n=4)	(n=6)	(n=2)	(n=3)	(n=2)
Erkek											
%	1	1	5	8	13	5	1	3	3	3	1
(n=34)	(n=1)	(n=1)	(n=4)	(n=6)	(n=10)	(n=4)	(n=1)	(n=2)	(n=2)	(n=2)	(n=1)

* Hastaların klinik bulgularına göre hastalığın ciddiyet skorlaması yapılırken prap skorı esas alınmıştır (72, 73).

Hastalarımızda görülen klinik bulguların ciddiyetine göre yapılan skorlama ile 3435C>T genotipleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunmazken, E148Q mutasyonu ile ciddiyet skorlaması arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu ($p=0,006$).

Tablo 4.11: Cinsiyete göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı

		Genotipik dağılım (%)	
Polimorfizmler		Kadın (n=25)	Erkek (n=21)
21896C>T	C/C	100 (n=25)	100 (n=21)
	C/T	- (n=0)	- (n=0)
	T/T	- (n=0)	- (n=0)
15713T>C *	T/T	92 (n=23)	66,6 (n=14)
	C/T	8 (n=2)	28,6 (n=6)
	C/C	- (n=0)	4,8 (n=1)
-392A>G	A/A	92 (n=23)	95,2 (n=20)
	A/G	8 (n=2)	4,7 (n=1)
	G/G	- (n=0)	- (n=0)
15615T>C *	T/T	100 (n=23)	76,4 (n=13)
	T/C	- (n=0)	23,5 (n=4)
	C/C	- (n=0)	- (n=0)
23171T>C	T/T	100 (n=25)	100 (n=21)
	T/C	- (n=0)	- (n=0)
	C/C	- (n=0)	- (n=0)

Cinsiyetler arasında 15713T>C ($p=0,03$) ve 15615T>C ($p=0,01$) polimorfizmlerinin genotipik dağılımları arasında anlamlı farklılık mevcuttu.

Tablo 4.12: Cinsiyete göre MDR1 genotiplerinin dağılımları

Polimorfizmler		Genotipik dağılım (%)	
		Kadın (n=27)	Erkek (n=21)
(-)1A>G	A/A	92,5 n=27	95,2 n=20
	A/G	7,4 n=2	4,7 n=1
	G/G	- n=0	- n=0
61A>G	A/A	92,5 n=25	95,2 n=20
	A/G	7,4 n=2	4,7 n=1
	G/G	- n=0	- n=0
1199G>A	G/G	85,1 n=23	90,4 n=19
	G/A	14,8 n=4	9,5 n=2
	A/A	- n=0	- n=0
1236C>T	C/C	7,4 n=2	33,3 n=7
	C/T	77,7 n=21	38,0 n=8
	T/T	14,8 n=4	28,5 n=6
2677G>A	G/G	100 n=27	95,2 n=20
	G/A	- n=0	4,7 n=1
	A/A	- n=0	- n=0
2677G>T	G/G	33,3 n=9	9,5 n=2
	G/T	59,2 n=16	57,1 n=12
	T/T	7,4 n=2	33,3 n=7

Cinsiyetler arasında MDR1 polimorfizmlerinin dağılımlarında anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tablo 4.13: Aile hikayesi varlığına göre MDR1 genotiplerinin dağılımı

Polimorfizmler		Aile öyküsü (%)	
		Var	Yok
(-)1A>G	A/A	96,5 n=28	89,4 n=17
	A/G	3,4 n=1	10,5 n=2
	G/G	- n=0	- n=0
61A>G	A/A	89,6 n=26	100 n=19
	A/G	10,3 n=3	- n=0
	G/G	- n=0	- n=0
1199G>A	G/G	89,6 n=26	84,2 n=26
	G/A	10,3 n=3	15,7 n=3
	A/A	- n=0	- n=0
1236C>T	C/C	17,2 n=5	21,0 n=4
	C/T	51,7 n=15	73,6 n=14
	T/T	31,0 n=9	5,2 n=1
2677G>A	G/G	96,5 n=28	100 n=19
	G/A	3,4 n=1	- n=0
	A/A	- n=0	- n=0
2677G>T	G/G	24,1 n=7	21,0 n=4
	G/T	51,7 n=15	63,1 n=12
	T/T	24,1 n=7	15,7 n=3

Aile öyküsü yönünden MDR1 polimorfizmlerinin dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tablo 4.14: Aile hikayesi varlığına göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı

Polimorfizmler		Aile öyküsü (%)	
		Var	Yok
21896C>T	C/C	63,0 n=29	36,9 n=17
	C/T	- n=0	- n=0
	T/T	- n=0	- n=0
15713T>C	T/T	52,1 n=24	30,4 n=14
	T/C	10,8 n=5	6,5 n=3
	C/C	2,1 n=1	- n=0
-392A>G	A/A	56,5 n=26	36,9 n=17
	A/G	6,5 n=3	- n=0
	G/G	- n=0	- n=0
15615T>C	T/T	67,5 n=27	37,5 n=15
	T/C	5 n=2	5 n=2
	C/C	- n=0	- n=0
23171T>C	T/T	63,0 n=29	36,9 n=17
	T/C	- n=0	- n=0
	C/C	- n=0	- n=0

Aile öyküsü yönünden CYP3A4 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tablo 4.15: Kolşisin uygulama dozuna göre MDR1 genotiplerinin dağılımı

Polimorfizmler		Kolşisin uygulama dozu		
		1x1	2x1*	3x1*
(-)1A>G (%)	A/A	- n=0	92 n=2	100 n=22
	A/G	100 n=1	8 n=2	- n=0
	G/G	- n=0	- n=0	- n=0
61A>G (%)	A/A	100 n=1	100 n=25	86,3 n=19
	A/G	- n=0	- n=0	13,6 n=3
	G/G	- n=0	- n=0	- n=0
1199G>A (%)	G/G	100 n=1	80 n=20	95,4 n=21
	G/A	- n=0	20 n=5	4,5 n=1
	A/A	- n=0	- n=0	- n=0
1236C>T (%)	C/C	100 n=1	20 n=5	18,1 n=4
	C/T	100 n=1	64 n=16	54,5 n=12
	T/T	- n=0	16 n=4	27,2 n=6
2677G>A (%)	G/G	100 n=1	96 n=24	100 n=22
	G/A	- n=0	4 n=1	- n=0
	A/A	- n=0	- n=0	- n=0
2677G>T (%)*	G/G	- n=0	28 n=7	18,1 n=4
	G/T	100 n=1	56 n=14	59,0 n=13
	T/T	- n=0	16 n=4	22,7 n=5

Çalışma grubumuzda 1x1/gün dozunda kolşisin uygulanan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken, günde 2x1 ve 3x1 kolşisin uygulanan hastalar arasında 2677G>T polimorfizmi yönünden anlamlı farklılık mevcuttu (p=0,03).

Tablo 4.16: Kolşisin uygulama dozuna göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı

Polimorfizmler		Kolşisin uygulama dozu		
		1x1	2x1	3x1
21896C>T (%)	C/C	100 n=1	100 n=25	100 n=21
	C/T	- n=0	- n=0	- n=0
	T/T	- n=0	- n=0	- n=0
15713T>C (%)	T/T	100 n=0	88 n=0	72,7 n=0
	T/C	- n=0	12 n=0	22,7 n=0
	C/C	- n=0	- n=0	4,5 n=1
-392A>G (%)	A/A	100 n=1	92 n=23	95,4 n=21
	A/G	- n=0	8 n=2	4,5 n=1
	G/G	- n=0	- n=0	- n=0
15615T>C (%)	T/T	100 n=1	91,6 n=22	87,5 n=14
	T/C	- n=0	8,3 n=2	12,5 n=2
	C/C	- n=0	- n=0	- n=0
23171T>C (%)	T/T	100 n=1	100 n=25	100 n=20
	T/C	- n=0	- n=0	- n=0
	C/C	- n=0	- n=0	- n=0

Kolşisin uygulama dozu ile CYP3A4 polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı.

Tablo 4.17: Hastaların klinik bulgularına göre MDR1 genotiplerinin dağılımı

		(-)1A>G			61A>G			1199G>A*			1236C>T			2677G>A*			2677G>T		
Klinik bulgular (n=48)		A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	G/G	G/A	A/A	C/C	C/T	T/T	G/G	G/A	A/A	G/G	G/T	T/T
Ateş		83,3	4,1	-	81,2	6,2	-	75	12,5	-	16,6	50	20,8	87,5	2,0	-	20,8	47,9	18,7
	Var	n=40	n=2	n=0	n=39	n=3	n=0	n=36	n=6	n=0	n=8	n=24	n=10	n=42	n=1	n=0	n=10	n=23	n=9
		12,5	2,0	-	12,5	-	-	12,5	-	-	2,0	10,4	-	12,5	-	-	2,0	10,4	-
	Yok	n=6	n=1	n=0	n=6	n=0	n=0	n=6	n=0	n=0	n=1	n=5	n=0	n=6	n=0	n=0	n=1	n=5	n=0
Peritonit *		93,7	6,2	-	91,6	6,2	-	85,4	12,5	-	18,7	60,4	20,8	97,9	2,0	-	16,6	47,9	18,7
	Var	n=45	n=3	n=0	n=44	n=3	n=0	n=41	n=6	n=0	n=9	n=29	n=10	n=47	n=1	n=0	n=8	n=23	n=9
		2,0	-	-	2,0	-	-	-	2,0	-	-	2,0	-	2,0	-	-	2,0	-	-
	Yok	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0
Eritem		12,5	-	-	10,4	2,0	-	12,5	-	-	2,0	8,3	2,0	12,5	-	-	4,1	6,2	2,0
	Var	n=6	n=0	n=0	n=5	n=1	n=0	n=6	n=0	n=0	n=1	n=4	n=1	n=6	n=0	n=0	n=2	n=3	n=1
		81,2	6,2	-	83,3	4,1	-	75	12,5	-	16,6	52,0	18,7	87,5	-	-	18,7	52,0	16,6
	Yok	n=39	n=3	n=0	n=40	n=2	n=0	n=36	n=6	n=0	n=8	n=25	n=8	n=42	n=0	n=0	n=9	n=25	n=8
Plörit*		16,6	-	-	16,6	-	-	16,6	-	-	6,2	6,2	4,1	16,6	2,0	-	6,2	6,2	4,1
	Var	n=8	n=0	n=0	n=8	n=0	n=0	n=8	n=0	n=0	n=3	n=3	n=2	n=8	n=1	n=0	n=3	n=3	n=2

Artrit		8,3	6,2	-	77,0	6,2	-	70,8	12,5	-	12,5	54,1	16,6	83,3	-	-	16,6	52,0	16,6
	Yok	n=40	n=3	n=0	n=37	n=3	n=0	n=34	n=6	n=0	n=6	n=26	n=27	n=40	n=0	n=0	n=8	n=25	n=8
	Var	41,6	-	-	37,5	4,1	-	39,5	2,0	-	6,2	27,0	8,3	41,6	-	-	8,3	22,9	10,4
Artrit																			
	Yok	n=28	n=3	n=0	n=20	n=1	n=0	n=23	n=5	n=0	n=6	n=16	n=6	n=28	n=0	n=0	n=7	n=18	n=5
	Var	58,3	6,2	-	41,6	2,0	-	47,9	10,4	-	12,5	33,3	12,5	58,3	-	-	14,5	37,5	10,4
Apendektomi		29,1	2,0	-	25	6,2	-	29,1	2,0	-	8,3	16,6	6,2	31,2	2,0	-	8,3	18,7	4,1
	Yok	n=33	n=2	n=0	n=33	n=0	n=0	n=28	n=5	n=0	n=5	n=21	n=7	n=33	n=0	n=0	n=7	n=20	n=8
	Var	68,7	4,1	-	68,7	-	-	58,3	10,4	-	10,4	43,7	14,5	68,7	-	-	14,5	41,6	16,6
Splenomegali		8,3	-	-	8,3	-	-	8,3	-	-	-	8,3	-	8,3	-	-	2,0	6,2	-
	Yok	n=44	n=3	n=0	n=41	n=3	n=0	n=38	n=6	n=0	n=9	n=25	n=10	n=44	n=0	n=0	n=8	n=26	n=9
	Var	91,6	6,2	-	85,4	6,2	-	79,1	12,5	-	18,7	52,0	20,8	91,6	-	-	16,6	54,1	18,7
Proteinüri		10,4	-	-	8,3	2,0	-	10,4	-	-	-	6,2	4,1	10,4	-	-	-	6,2	4,1
	Yok	n=43	n=3	n=0	n=41	n=2	n=0	n=37	n=6	n=0	n=9	n=26	n=8	n=43	n=0	n=0	n=11	n=25	n=7
	Var	89,5	6,2	-	85,4	4,1	-	77,0	12,5	-	18,7	54,1	16,6	89,5	-	-	22,9	52,0	14,5

Çalışma grubumuzda peritonit eşlik eden hastalarımızda 1199G>A polimorfizmi için ($p=0,01$), plörit eşlik eden hastalarımızda 2677G>A polimorfizmi için ($p=0,02$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu.

Tablo 4.18: Hastaların klinik bulgularına göre CYP3A4 genotiplerinin dağılımı

Klinik bulgular (n=46)	21896C>T			15713T>C*			-392A>G			15615T>C*			23171T>C			
	C/C	C/T	T/T	T/T	T/C	C/C	A/A	A/G	G/G	T/T	T/C	C/C	T/T	T/C	C/C	
Ateş		86,6	-	-	84,7	13,0	2,1	80,4	6,5	-	90	7,5	-	86,9	-	-
	Var	n=39	n=0	n=0	n=39	n=6	n=1	n=37	n=3	n=0	n=36	n=3	n=0	n=40	n=0	n=0
		13,3	-	-	2,1	4,3	-	13,0	-	-	-	2,5	-	15	-	-
Yok	n=6	n=0	n=0	n=1	n=2	n=0	n=6	n=0	n=0	n=0	n=0	n=1	n=0	n=6	n=0	n=0
Peritonit		97,7	-	-	97,8	17,3	2,1	91,3	6,5	-	87,5	10	-	97,8	-	-
	Var	n=44	n=0	n=0	n=45	n=8	n=1	n=42	n=3	n=0	n=35	n=4	n=0	n=45	n=0	n=0
		2,2	-	-	2,1	-	-	2,1	-	-	2,5	-	-	2,1	-	-
Yok	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0	n=1	n=0	n=0
Eritem		13,3	-	-	-	2,1	-	13,0	-	-	12,5	-	-	13,0	-	-
	Var	n=6	n=0	n=0	n=0	n=1	n=0	n=6	n=0	n=0	n=5	n=0	n=0	n=6	n=0	n=0
		86,6	-	-	23,9	15,2	2,1	80,4	6,5	-	77,5	10	-	86,9	-	-
Yok	n=39	n=0	n=0	n=11	n=7	n=1	n=37	n=3	n=0	n=0	n=31	n=4	n=0	n=40	n=0	n=0
Plörit*		15,5	-	-	8,6	8,6	-	17,3	-	-	12,5	5	-	17,3	-	-
	Var	n=7	n=0	n=0	n=4	n=4	n=0	n=8	n=0	n=0	n=5	n=2	n=0	n=8	n=0	n=0
		84,4	-	-	80,4	8,6	2,1	76,0	6,5	-	77,5	5	-	82,6	-	-
Yok	n=38	n=0	n=0	n=37	n=4	n=1	n=35	n=3	n=0	n=0	n=31	n=2	n=0	n=38	n=0	n=0
Artrit		42,2	-	-	34,7	4,3	2,1	39,1	2,1	-	40	2,5	-	47,5	-	-
	Var	n=19	n=0	n=0	n=16	n=2	n=1	n=18	n=1	n=0	n=16	n=1	n=0	n=19	n=0	n=0

		57,7	-	-	80,4	13,0	-	54,3	4,3	-	50	7,5	-	58,6	-	-
	Yok	n=26	n=0	n=0	n=37	n=6	n=0	n=25	n=2	n=0	n=20	n=3	n=0	n=27	n=0	n=0
Apendektomi		33,3	-	-	-	4,3	-	32,6	-	-	30	2,5	-	32,6	-	-
	Var	n=15	n=0	n=0	n=0	n=2	n=0	n=15	n=0	n=0	n=12	n=1	n=0	n=15	n=0	n=0
	Yok	n=30	n=0	n=0	n=24	n=6	n=1	n=28	n=3	n=0	n=24	n=3	n=0	n=31	n=0	n=0
Splenomegali		8,8	-	-	-	-	-	8,6	-	-	10	-	-	8,6	-	-
	Var	n=4	n=0	n=0	n=0	n=0	n=0	n=4	n=0	n=0	n=4	n=0	n=0	n=4	n=0	n=0
	Yok	n=41	n=0	n=0	n=42	n=8	n=1	n=39	n=3	n=0	n=32	n=4	n=0	n=42	n=0	n=0
Proteinüri		11,1	-	-	8,6	2,1	-	8,6	2,1	-	7,5	-	-	10,8	-	-
	Var	n=5	n=0	n=0	n=4	n=1	n=0	n=4	n=1	n=0	n=3	n=0	n=0	n=5	n=0	n=0
	Yok	n=40	n=0	n=0	n=33	n=7	n=1	n=39	n=2	n=0	n=33	n=4	n=0	n=41	n=0	n=0

Çalışma grubumuzda plörit eşlik eden hastalarda 15713T>C (p=0,02) ve 15615T>C (p=0,02) polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu.

5. TARTIŞMA

Mendelyen kalıtım modellerinden otozomal resesif olarak geçiş gösteren AAA' nin, ülkemizdeki görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcı sıklığı ise 1/5 - 1/10 olduğu bilinmektedir (30, 31).

Hastalığın klinik prezentasyonunun kromozom 16p13.3 bölgesinde lokalize olan MEFV genindeki mutasyonlar ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Hastaların büyük çoğunluğu, homozigot ya da birleşik heterozigot olmak üzere, MEFV geninde iki mutasyona sahiptir. MEFV gen bölgesindeki mutasyonların, hastalığın oluşumunun yanı sıra, prognozu ve klinik ciddiyeti üzerinde de önemli etkileri olduğu düşünülmektedir (5).

Moleküler genetik tanı tekniklerinin uygulandığı günümüze kadar, AAA tanısı yalnızca klinik bulgulara, ailesel kökene ve ilaca verilen yanıtı bakılarak konulmaktaydı. Bu nedenle, klinik bulguların hafif olduğu hastalarda ve fenotip II' de AAA tanısının geç konulması amiloidoz gibi ciddi komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açabilmektedir. Hastaların atak dönemlerinde gözlenen şiddetli karın ağrısı ve yüksek ateş gibi semptomlar apandisit şüphesiyle operasyon geçirmelerine ve gereksiz tetkiklerin yapılmasına neden olabilmektedir. Hastalığın klinik açıdan karmaşık olması hem hekimin tanı koymasını güçleştirmekte, hem de geç tanı konulması nedeniyle çok ciddi komplikasyonların fark edilmeden oluşmasına zemin hazırlamaktadır. Bu durum önemli mortalite ve morbidite nedeni olmakla birlikte, aynı zamanda ciddi sosyal ve ekonomik kayıplara da yol açmaktadır (53, 81).

MEFV gen mutasyon analizlerinin yaygınlaşması, semptomların hafif olduğu AAA hastalarında dahi tanı şansı sağlamıştır. Hastalara erken yaşta AAA teşhisi konularak olası komplikasyonların gelişiminin önüne geçilebilir (5, 22).

Bu çalışmada kolşisin tedavisi uygulanan AAA hastalarında MEFV gen mutasyonları, MDR1 ve CYP3A4 genotiplerinin dağılımlarını, ayrıca tedavi amacıyla farklı dozlarda uygulanan kolşisin ile tedaviye alınan cevabın, kolşisinin emiliminde ve biyotransformasyonunda görevli genler olan MDR1 ve CYP3A4 genleri ile ilişkisini araştırdık. Ayrıca hastalığın klinik bulgularının ve MDR1 ile CYP3A4 genlerinin genotipik dağılımlarının kadın ve erkek cinsiyetteki dağılımlarını ve cinsiyete göre farklılıklarını değerlendirdik.

Günümüzde AAA' nin tedavisinde, enflamatuvar atakların sıklığını en etkin biçimde kontrol eden ve renal amiloidoz gelişimini engelleyen tek farmasötik ajanın kolşisin olduğu bilinmektedir. Kolşisin ile yapılan profilaktik tedavi genellikle ateş ile seyreden akut atakları önlemekle birlikte, amiloidoz gelişimini engellemekte ve/veya proteüni şiddetini azaltmaktadır (77). Hastalarımıza uygulanan kolşisin dozu ile MEFV gen mutasyonlarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamaktadır (Tablo 4.7). Böylece, MEFV gen mutasyonları hastalığın klinik ciddiyeti üzerinde önemli bir parametre olmakla birlikte, tek başına etkili olmadığı, semptomların ciddiyeti ile ilişkili başka faktörlerin de bulunabileceği söylenebilir. Ayrıca, MEFV gen mutasyonları, cinsiyete bağlı anlamlı bir dağılım göstermemektedir.

Klinik olarak eritem varlığı cinsiyetler arasında anlamlı farklılık göstermekteydi ($p=0,02$). AAA' ne eşlik eden klinik bulgu olarak kadın cinsiyette eritemin daha fazla görülmesinin nedeni otoimmünite kaynaklı olabilir. Ayrıca, MDR1 gen polimorfizmlerinden; 1199G>A' nın peritonit gelişimi üzerine ($p=0,01$), 2677G>A' nın da plörit gelişimi üzerine etkin olabileceği ($p=0,02$) görülmüştür. Peritonit AAA' nin klinik teşhisinde temel bir parametre olup, karın ağrısı şikayeti ile kliniğe başvuran hastalarda AAA' ne yönelik mutasyon analizlerinin yanı sıra bu polimorfizm peritonit riskini belirlemek açısından yardımcı bir moleküler analiz olabilir. 2677G>A polimorfizmi çalışmamızda, 2677G>T varyantına oranla nadir görülen bir değişiklik olup ($n=1$), bu polimorfizm yönünden incelenen hasta sayısının artırılması ile bu istatistiksel ilişkinin daha objektif sonuçlarına ulaşılması sağlanabilir. Bunun yanı sıra CYP3A4 gen bölgesi polimorfizmlerinden, 15713T>C ($p=0,02$) ve 15615T>C ($p=0,02$)' nin plörit gelişimini tetikleyebileceği bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bazen presemptomatik hastalarda mutasyonların tespit edilmesi sonrasında kolşisin tedavisinin başlanması ciddi fenotiplerin önlenmesi açısından önemlidir (77, 81). Genellikle genotip ve AAA' nin klinik prezentasyonu arasında güçlü bir birliktelik yoktur ve spesifik genotipleri hastalık prezentasyonları ile ilişkilendirmek zordur. Genotipik ve fenotipik AAA varyantları arasındaki ilişkiyi anlamak için, kompleks allelleri, modifiye bölgeleri, genetik heterojeniteyi ve olası epigenetik faktörleri büyük ailelerde ekspresyon profillerine bakarak analiz etmek gerekmektedir.

AAA zamanında ve uygun şekilde tedavi edilirse kendini sınırlayan bir hastalık iken, uygun tedavi edilmezse amiloid depolanması ile kronik böbrek yetmezliğine ve fatal gidişe yol açmaktadır. Kolşisin kullanımı ile AAA ataklarının sıklığı azalmaktadır veya tamamen kesilmektedir. Bu nedenle, AAA tanısı konulan hastalara kontrendikasyon yoksa kolşisin tedavisi başlanması önerilmektedir (14, 23, 24, 53). Bundan dolayı atipik bir prezentasyonda da, MEFV gen analizi yönünden heterozigot olan ancak hastalıkla ilişkili fenotip gösteren hastalarda tipik olarak kolşisin ile tedavinin başlanması gerektiği düşünülmektedir. Kolşisin terapisi, atak sıklığı ile şiddetini azaltmak ve sekonder amiloidoz gelişimini önlemek açısından çift yönlü bir tedavidir. Ancak, bazı AAA hastalarında tedavi sırasında yüksek dozlarda kolşisin kullanımına karşın, tedaviye sınırlı cevap alındığı veya %5-10 hastada hiç cevap alınamadığı da gözlemlenmiştir (91).

Kolşisin emiliminde ve tedaviye verilen cevapta bireyler arası farklılıklar olmasının birincil nedeni kolşisinin farmakokinetiğinden kaynaklanmaktadır ve genel olarak ilaç direnci, tedavide karşılaşılan ciddi bir problem olmakla birlikte, oluşan direncin tedaviden önce mi, tedavi süresinde mi geliştiği bilinmesi gereken primer bir durumdur. Kolşisin farmakokinetiğindeki farklılıklar, metabolizmasında görev alan CYP3A4 ve MDR1/P-gp genleri ile ilişki göstermektedir (77). MDR1/P-gp, hücre membranında lokalize olan ve birçok ilaç ile etkileşime giren, ATP bağımlı bir fosfolikoproteindir. İlacın hücre içine alınmasını engelleyerek, tedaviye direnç geliştirilmesine neden olur (5). Ayrıca, ilaçlar tarafından da P-gp' nin indüklenmesi, ilgili genin genotipine ve ilacın dozuna bağlı değişiklik de gösterebilir.

Hastalarımızda 2x1/gün ve 3x1/gün dozunda kolşisin tedavisi uygulanan bireyler arasında, MDR1 gen polimorfizmlerinden 2677G>T polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0,03). 2x1/gün dozunda kolşisin tedavisi alan hastalarda G alleli %14,5; T alleli %31,2 iken, 3x1/gün dozunda kolşisin tedavisi alanlarda G alleli %8,3; T alleli %29,1' idi. Dolayısıyla, 2677T alleli bireylerde tedavi dozunun artırılmasına neden olmaktaydı. Bu sonuca göre hastaların tedavi dozlarının, MDR1 gen bölgesi 2677G>T polimorfizmine göre düzenlenmesi ile hastaların tedaviden daha fazla yararlanmasının sağlanabileceği düşünülebilir. Çalışma grubumuzda 2x1/gün ve 3x1/gün kolşisin uygulama dozu ile 3435C>T genotipik varyantları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktaydı. Bu nedenle, 3435C>T

polimorfizminin kolşisin metabolizmasını ve dolayısıyla direncini belirleyebilen bir polimorfizm olmadığı düşünülmektedir. Farklı bir deyişle, C allelinin AAA hastalarında ilaca dirençten tek başına sorumlu olmadığı söylenebilir. Çalışma süresinde tedavi olan hastalarda uygulanan günlük kolşisin dozu, 2677G>T polimorfizminin ekspresyon seviyesini artırabilir ve kolşisine karşı direnç gelişimine neden olabileceğini söyleyebiliriz. Spesifik olarak artan direncin, hastalara uygulanan tedaviden mi kaynaklandığı, yoksa daha önceden var olan bir direnç mi olduğunu anlamak için, AAA' li hasta gruplarında, hastaların belirli zamanlardaki periferik kanları alınarak MDR1 gen polimorfizmlerine ait mRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ile hastanın tedaviye nasıl yanıt verdiğine bakılarak direnç gelişimi ile ilgili daha net bir tablo çizilebilir.

Literatürde, MDR1 gen polimorfizmlerinden 3435C>T' nin, P-gp' nin ekspresyonunu ve ilaç transport edebilme fonksiyonunu değiştirdiği bildirilmiştir (30). Homozigot C/C genotipinde P-gp aktivitesi artmış iken, heterozigot C/T genotipinde orta düzeyde bir artış, ve homozigot T/T genotipinde ise P-gp aktivitesi azalmıştır (31). Çalışma grubumuzda 3435C>T polimorfizmi ile kolşisin uygulama dozu arasında bir ilişki bulunmamaktaydı. 3435C>T polimorfizminin C/C, T/T ve C/T genotipleri sırasıyla, %1,4, %43,8 ve %54,8 oranlarında bulundu. Cinsiyetler arasında 3435C>T genotiplerinin dağılımlarında farklılık bulunmamaktaydı. Bu konuda çok kısıtlı sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte, bunlardan Türk populasyonunda yapılan önceki bir çalışmada, C allel sıklığı %40, T allel sıklığı %60 olarak bildirilmişti (26). Bizim sonuçlarımıza göre, C allel sıklığını %28,8 ve T allel sıklığı %71,2 idi. C ve T allellerinin Türk populasyonunda yapılmış olan önceki oranlardan farklı olmasının bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Cinsiyetler arasında 3435C>T, 1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, ve 2677G>T genotiplerinin dağılımlarında farklılık bulunmamaktaydı. Bu durum kolşisin direncinin cinsiyet ile paralel bir değişken olmadığını gösterebilir. Ayrıca, MDR1 genindeki başka polimorfizmlerin etkisi ile de, ilaçların emilimlerinin ayarlanabildiği ve tedaviye olumlu yanıt veya direnç gösterilebildiği söylenebilir.

Sonuçlarımıza göre, CYP3A4 geninin 15713T>C ve 15615T>C polimorfizmleri cinsiyetler arasında anlamlı farklılıklar göstermekteydi (sırasıyla; p=0,03 ve p=0,01). Sonuçların oransal değerleri irdelendiğinde, genetik heterojenitenin erkek bireylerde

kadınlara oranla daha fazla görüldüğünü ve ilaca karşı verilen yanıtın direnç veya toksisite eğiliminde olmasının erkeklerde daha belirgin olduğu söylenebilir.

Normal dokularda homozigot T/T genotipinin düşük P-gp ekspresyon seviyesi ile ilgili olduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir (23, 24, 25). Bizim sonuçlarımızda da, Kaya ve arkadaşlarının sonuçları ile aynı paralelde, T allel sıklığının fazla olması nedeniyle genel olarak Türk populasyonunun sitotoksik ajanlara karşı daha hassas olabileceğini düşünmekteyiz.

T/T genotipinin azalmış P-gp aktivitesi ile ilişkili olduğu göz önünde bulundurularak, kadınlardaki C/T genotip oranı T/T genotipten daha yüksek iken, erkeklerde C/T ve T/T genotipleri eşit oranlarda bulunmaktaydı. Bu durum, kadın hastalarda ilaç emiliminin daha az gerçekleştiği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışma grubumuzda apendektomi öyküsü, peritonit, plörit, artrit, eritem, amiloidozis ve yan etki varlığı ile MEFV gen mutasyonlarının dağılımları arasında ilişki bulunmazken, ateş ile M680I mutasyonu arasında ($p=0,03$) ve splenomegali ile M694V mutasyonu ($p=0,04$) arasında anlamlı bir ilişki belirlendi. Bu durum, AAA tanısında ateşin çoğu zaman temel bir klinik bulgu olması ve hastaların ortalama %85' inde görülmesi ve M680I mutasyonunun da MEFV geninde görülen mutasyonlar arasında bizim sonuçlarımıza göre ikinci sıklıkla görülen bir mutasyon olması ile açıklanabilir. Dolayısıyla, AAA hastalarında en sık görülen klinik bulgu ile ikinci sıklıkta görülen M680I mutasyonları arasındaki anlamlı ilişkinin olması beklenen bir durumdur.

M694V mutasyonu hastalarımızda en sık görülen MEFV gen mutasyonuydu. Hastalarımızın %6,4' ünde splenomegali bulunmaktaydı. İlginç olarak splenomegali bulunan hastaların 3' ünde homozigot, 2' sinde M694V mutasyonu heterozigot olarak, 2 hastada ise M680I mutasyonu heterozigot olarak bulunmaktaydı. Dolayısıyla, M694V mutasyonu bulunan AAA hastalarında splenomegali gelişme riskinin bulunduğu da söylenebilir. Bu nedenle de, AAA hastalarında MEFV gen mutasyonlarının moleküler analizlerinin yapılması ve prognoz mutasyonlarla ilişkilendirilerek takip edilmesi uygun olur.

Çalışma grubumuzda ani üşüme titreme, peritonit, plörit, eritem, amiloidoz, apendektomi semptomları ile 3435C>T ve MEFV gen mutasyonlarının dağılımları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktaydı. Ancak, artrit eşlik ettiği AAA hastalarında 3435C>T polimorfizminin genotipleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu

($p=0,04$). Bu durum, T allel sıklığının yüksek olmasına bağlı ilaca hassasiyetin artması ile açıklanabilir. Ayrıca, bu durumun 3435C>T' nin genotiplerine ilave başka gen bölgelerinin etkisi ile de gerçekleşebileceği söylenebilir.

Aile öyküsünün varlığı, AAA tanısında önemli kriterlerden birisidir. Hangi mutasyon ya da mutasyonların varlığında ailesel geçişin daha belirgin olduğunun önemi, hastalığın genotip-fenotip açısından değerlendirilmesinde de bilgi sağlayabilir. Hastalarımızda aile öyküsünün varlığı ile 3435C>T, (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T, 21896C>T, 15713T>C, -392A>G, 15615T>C, 23171T>C genotipleri arasında bir ilişki bulunmazken, M680I mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu ($p=0,01$). Dolayısıyla, bu çalışma kapsamında bakmış olduğumuz MDR1 ve CYP3A4 genotiplerinin ailesel geçişlerde bir kriter olmadığı söylenebilir. Ancak, moleküler olarak M680I mutasyonu belirlenen AAA hastalarında aile öyküsünün özellikle sorgulanması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, tek başına ateş semptomu görülen ailelerde M680I mutasyonunun varlığı da tanıyı güçleştirebilir.

Türk populasyonunda 900 AAA hastası üzerinde yapılan bir araştırmada en sık görülen beş mutasyonun; M694V, M694I, M680I, V726A, ve E148Q olduğu ve sırasıyla % 51.55, %0.44, %9.22, %2.88 ve %3.55 oranlarında görüldüğü bildirilmiştir (77). Biz de çalışmamızda M694V, M694I, M680I, V726A ve E148Q mutasyonlarını sırasıyla %62.8, %2.6, %24.4, %21.8 ve %15.4 oranlarında bulduk. Önceki çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da M694V mutasyonu Türk toplumunda en sık, M694I ise en az görülen MEFV gen mutasyonudur. Taşıyıcı sıklığı %20 olup, Aşkenazi ve Kuzey Afrika kökenli Yahudilerdeki taşıyıcı sıklığına eşittir (77). Biz de çalışmamızdaki AAA hastalarının, %19,2' sinin heterozigot, %29,5' inin homozigot ve %39,7' sinin birleşik heterozigot genotipe sahip olduğunu tespit ettik.

Önceki çalışmalarda M694V genotipi amiloidoz gelişimi ile birçok defa ilişkilendirilmiştir (35, 39, 40). Fakat çalışmamızda, amiloidoz ile MEFV gen mutasyonları arasında bir ilişki belirlenemedi. Sadece bir hastada amiloidoz gelişimi mevcuttu. Bu durum, hasta sayımızın az olması ile ilişkilendirilebileceği gibi amiloidoz gelişiminin MEFV gen mutasyonlarından bağımsız bir durum olması şeklinde açıklanabilir veya hastalara erken tanı konulması ve erken tedavi programına alınması nedeniyle amiloidoz gelişme oranının daha düşük olması şeklinde de

düşünülebilir. Ayrıca bu durum, erken tedavi ile amiloidoz gelişme oranının daha düşük olabileceği hipotezini de güçlendirebilir.

Hastalığın ciddiyetini belirlemek üzere her hastaya Pras skorlaması yapılmıştır. Pras skorunda her bir parametre puanlandırılmış ve toplam puan ile AAA' nin klinik ciddiyeti belirlenmiştir. 3-5 arasında yer alan puanlar hafif, 6-8 arasında olan puanlamalar orta ve >9 olan puanlar ise hastalık tablosunun seyrinin ağır olduğu yönünde değerlendirilmektedir (72, 73). Bu skorlamaya göre hastalarımızın %44,9' u AAA yönünden hafif, %32,1' i orta ve %15,4' ü ise ağır seyirli AAA hastası olarak belirlendi. Hastalarımızda klinik olarak Pras skorları ile 3435C>T genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, E148Q mutasyonu ile klinik skorlama arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu. Bu durumda AAA hastalarında E148Q mutasyonunun varlığında klinik seyrin daha ağır olduğu da söylenebilir. Hastalığın fenotipi, C/T genotipine sahip olan hastaların %13,4' ünde ağır, %21,9' unda orta ve %17,8' inde hafif ciddiyettedir. T/T genotipi bulunan hastaların ise %2,7' sinde hastalık ağır, %10,9' unda orta ve %27,4' ünde hafif seyirliydi. Bu duruma göre, C/T genotipinin hastalığın prognozunu daha ciddileştirdiği söylenebilir. C/C genotipine sahip olan 1 hasta, istatistiki açıdan anlamlı olmamakla birlikte, pras skoruna göre orta ciddiyetli hastalık seyrine sahipti.

48 hasta üzerinden değerlendirme yaptığımız diğer MDR1 gen polimorfizmleri ile Pras ciddiyet skorlaması arasında hastaların %56,3' ünde hastalık seyri hafif, %27,1' inde hastalık seyri orta, ve %16,6' sında da hastalık seyri ağır idi. Hafif şiddette hastalık seyrine sahip hastalarda 61A>G, 1236C>T, 2677G>T, 1199G>A polimorfizmlerinin oransal yüzdeleri sırasıyla; %8.3, %43.7, %45.8, %4.1' dir. Orta şiddette hastalık seyrine sahip hastalarda 61A>G, 1236C>T, 2677G>T, 1199G>A polimorfizmlerinin oransal yüzdeleri sırasıyla; %2.0, %22.91, %22.91, %4.1' dir. Ağır şiddette hastalık seyrine sahip hastalarda ise; 61A>G, 1236C>T, 2677G>T, 1199G>A polimorfizmlerinin oransal yüzdeleri sırasıyla; %0, %12.5, %10.4, %2.0' dır. Bu oransal dağılımlara göre, 1236C>T polimorfizminin AAA' nin klinik seyrinin ağır olmasında etkili olabileceği, ve aynı şekilde 61A>G polimorfizmine sahip hastalarda ise AAA' nin klinik yansımasındaki etkilerine koruyucu yönde eşlik ettiği söylenebilir.

46 hasta üzerinden değerlendirme yaptığımız CYP3A4 gen polimorfizmleri ile Pras ciddiyet skorlaması arasında hastaların %56.5' inde hastalık seyrinin hafif şiddette, %26' sında hastalık seyrinin orta şiddette ve %17.3' ünde de hastalık seyrinin ağır

şiddette olduğu tespit edilmiştir. Araştırdığımız polimorfizmlerden 21896C>T, 15713T>C, -392A>G, 15615T>C, 23171T>C' nin hafif hastalık seyrine sahip olan hastalarda sahip oldukları oransal yüzdeleri sırasıyla; %0, %10.8, %2.1, %7.5, %0' dır. Orta hastalık seyrine sahip hastalarda bu yüzdeler yine sırası ile %0, %2.1, %2.1, %0 ve %0' dır. Aynı şekilde ağır hastalık seyrine sahip hastalarda ise aynı CYP3A4 gen polimorfizmleri sırasıyla; %0, %6.5, %2.1, %2.1, %2.5' dur. Bu sonuçlara göre, CYP3A4 gen polimorfizmlerinden 21896C>T polimorfizminin hastalığın hiçbir klinik formu ile artan veya azalan bir paralellik içinde yer almadığını, 23171T>C polimorfizminin ağır hastalık seyri ile ilişkili olabileceğini, 15713T>C polimorfizminin klinik seyrin üzerine koruyucu etkiye sahip olması ile birlikte, başka diğer CYP3A4 gen polimorfizmleri ile ağır fenotiplerde karşılaşılabilişmesi mümkün bir değişiklik olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

AAA hasta grubuna ait MDR1; 3435C>T, (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T, CYP3A4; 21896C>T, 15713T>C, -392A>G, 15615T>C, 23171T>C, MEFV gen mutasyonları; M694V, M694I, M680I, V726A, E148Q, kullanılan kolşisin dozları (2x1/gün, 3x1/gün, 4x1/gün) ve hastaların klinik özellikleri birbirleri ile karşılaştırıldı.

Cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 73 hastanın 3435C>T genotipik dağılımları, C/C, T/T ve C/T, sırasıyla %1,4, %43,8 ve %54,8 oranlarında bulundu. C allel sıklığını %28,8 ve T allel sıklığı %71,2 idi.

Cinsiyetler arasında 3435C>T genotipleri ile MEFV gen mutasyonları ve aile hikayesi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktaydı. Ancak M680I mutasyonuna sahip hastalarda aile hikayesi istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,01).

Çalışma grubumuzdaki hastalarda 2x1/gün, 3x1/gün ve 4x1/gün dozunda kolşisin uygulanan hastalar ile 3435C>T genotipik varyantları ve MEFV gen mutasyonlarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktaydı.

48 hastalık çalışma grubumuzda ise, günlük 2x1 ve 3x1 dozunda kolşisin kullanan bireyler arasında 2677G>T polimorfizmi için anlamlı bir ilişki bulunmaktaydı (p=0,03). 2x1/gün dozunda tedavi alan hastalarda G alleli %14,5; T alleli %31,2 iken, 3x1/gün dozunda tedavi alanlarda G alleli %8,3; T alleli %29,1' idi. Bu durumda 2677T alleli, bireylerde tedavi dozunun artırılmasına neden olmaktaydı.

Klinik bulgulardan artrit ile 3435C>T polimorfizmi (p=0,04); ateş ile M680I mutasyonu (p=0,03), splenomegali ile M694V mutasyonu (p=0,04), peritonit ile 1199G>A polimorfizmi (p=0,01), plörit ile 2677G>A (p=0,02), 15713T>C (p=0,02), 15615T>C polimorfizmleri (p=0,02) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktaydı.

Hastalarımızda görülen klinik bulguların ciddiyetine göre yapılan skoreleme ile 3435C>T genotipleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunmazken, E148Q mutasyonu ile ciddiyet skorelaması arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu (p=0,006). Bu durumda AAA hastalarında E148Q mutasyonunun varlığında klinik seyrin daha ağır olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, eğer T/T genotipinin azalmış P-gp aktivitesi ile ilişkili olduğunu varsayarsak, bu çalışma doğrultusunda kadınlardaki C/T genotip yüzdesinin ve erkeklerde de T/T genotip yüzdesinin yüksek olması, kadın hastalarda erkek hastalara göre ilaç emiliminin daha az gerçekleştiğini gösterebilir. Fakat gerek uygun kolşisin dozu, gerekse ayrı ayrı klinik bulgulara ışık tutabilen istatistiki anlamlılık 3435C>T genotiplerinde yakalanamamıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda, MDR1 gen polimorfizmlerinden 2677G>T dışında, MDR1 ve CYP3A4 genlerine ait diğer varyasyonların spesifik bir şekilde kolşisine karşı gösterilen direnç veya affiniteden sorumlu olabileceğini söyleyemeyiz. Fakat başka ilgili gen bölgelerinin de yer aldığı ve çalıştığımız bu polimorfizmlerin diğer hangi polimorfizmler ile birlikte fonksiyon kazandığının veya kaybettiğinin araştırıldığı kapsamlı çalışmalarda kolşisinin farmakokinetik ve farmakodinamik mekanizmalarının işleyişi hakkında daha fazla fikir sahibi olabiliriz. Böylece 3435C>T, (-)1A>G, 61A>G, 1199G>A, 1236C>T, 2677G>A, 2677G>T, 21896C>T, 15713T>C, -392A>G, 15615T>C, 23171T>C polimorfizmlerinin AAA tedavisine karşı yanıtta önemli olabileceğini ve kişiye özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ilişkin yapılan araştırmalara yol gösterebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca MDR1 polimorfizmlerine ek olarak, ilgili başka polimorfik bölgelerin çalışılması ve/veya MDR1 gen haplotip analizinin yapılması ile başta CYP3A4 gen bölgesi olmakla birlikte, diğer CYP450 enzim ailesi üyelerinin ekspresyon profillerinin kapsamlı incelendiği çalışmaların, gelecekte bireyselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin uygulanmasına daha fazla katkı sağlayacağını bizlere düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Hochberg M.C., Silman A.J., Smolen J.S., ve ark.** : Rheumatology. 3rd edition., Elsevier limited, 2003: 1717-1723
2. **McDermott M.F., Aksentijevich I, Galon J ve ark.** : Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. Cell. 1999; 97(1): 133-144
3. **Galon J., Aksentijevich I., McDermott M.F. ve ark.** : TNFRSF1A mutations and autoinflammatory syndromes. Curr Opin Immunol. 2000;12(4):479-486
4. **Kastner D.L., Aksentijevich I.** : Intermittent and periodic arthritic syndromes. In Arthritis and Allied Conditions A textbook of Rheumatology, 15th edition, Philadelphia and Moreland LW.(15. Hoffman HM, Orphanet, vol 1. Lippincott Williams 2005;1411:1460
5. **Yepiskoposyan L., Harutyunyan A.** : Molecular Genetics of Familial Mediterranean Fever. Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. 2008
6. **McDermott M.F., Aksentijevich I.** : The autoinflammatory syndromes. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2002; 2(6): 511-516
7. **Neven B., Callebaut I., Prieur A.M. ve ark.** : Molecular basis of the spectral expression of CIAS1 mutations associated with phagocytic cell-mediated autoinflammatory disorders CINCA/NOMID, MWS, and FCU. Blood. 2004; 103(7): 2809-2815
8. **Prieur A.M., Griscelli C.** : Arthropathy with rash, chronic meningitis, eye lesions, and mental retardation. J Pediatr. 1981; 99(1): 79-83
9. **Hassink S.G., Goldsmith D.P.** : Neonatal onset multisystem inflammatory disease. Arthritis Rheum. 1983; 26(5): 668-673
10. **Torbiak R.P., Dent P.B., Cockshott W.P.** : NOMID - a neonatal syndrome of multisystem inflammation. Skeletal Radiol. 1989; 18(5): 359-364
11. **Williamson L.M., Hull D., Mehta R. ve ark.** : Familial Hibernian fever. Q J Med. 1982; 51(204): 469-480

12. **Yeon H.B., Lindor N.M., Seidman J.G., ve ark. :** Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, and acne syndrome maps to chromosome 15q. *Am J Hum Genet.* 2000; 66(4): 1443-1448
13. **van der Meer J.W., Vossen J.M., Radl J., ve ark. :** Hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever: a new syndrome. *Lancet.* 1984; 1(8386): 1087-1090
14. **Kastner D.L., Aksentijevich I. :** Intermittent and periodic arthritic syndromes. *Arthritis and Allied Conditions A textbook of Rheumatology*, 2005: 1411-1459
15. **Touitou I., Kone´-Paut I. :** Autoinflammatory diseases, 2008; 22(5) : 811–829
16. **Livneh A., Langevitz P., Zemer D., ve ark. :** Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1997; 40(10): 1879-1885
17. **Janeway T.C., Mosenthal H.O. :** An unusual paroxysmal syndrome, probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism. *Trans Assos Am Physcians* 1908; 23; 504-518
18. **Siegal S. :** Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med* 1945; 23; 1-21
19. **Mamou H., Cattani R. :** La maladie periodique (sur 14 cas personnels dont 8 compliques de nephropathies). *Semin Hop Paris* 1952; 28; 1062-1070
20. **Heller H., Sohar E., Sherf L. :** Familial Mediterranean fever, *AMA Arch Intern Med.* 1958; 102(1): 50-71
21. **Sohar E., Gafni J., Pras M., ve ark.:** Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature, *Am J Med.* 1967; 43(2): 227-253
22. **Samuels J., Aksentijevich I., Torosyan Y., ve ark. :** Familial Mediterranean fever at the millennium. Clinical spectrum, ancient mutations, and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health. *Medicine (Baltimore).* 1998; 77(4): 268-297
23. **Aksentijevich I., Torosyan Y., Samuels J., ve ark. :** Mutation and haplotype studies of familial Mediterranean fever reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(4): 949-962
24. **Aldea A., Calafell F., Aróstegui J.I. ve ark. :** The west side story: MEFV haplotype in Spanish FMF patients and controls, and evidence of high LD and a recombination "hot-spot" at the MEFV locus. *Hum Mutat.* 2004; 23(4): 399

25. **Giaglis S., Papadopoulos V., Kambas K., ve ark. :** MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever. Clin Genet. 2007 ; 71(5): 458-467
26. **La Regina M., Nucera G., Diaco M., ve ark.:** Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy. Eur J Hum Genet. 2003; 11(1): 50-56
27. **Tunca M., Akar S., Onen F., ve ark. :** Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. Medicine (Baltimore). 2005; 84(1): 1-11
28. **Nussbaum, McInnes, Willard :** Medical Genetics, 6th edition, Thompson&thompson; 56
29. **Stoffman N., Magal N., Shohat T. ve ark. :** Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever in various Jewish ethnic groups. Eur J Hum Genet. 2000;8(4): 307-310
30. **Ben-Chetrit E., Levy M. :** Familial Mediterranean fever. 1998, Lancet 28; 351(9103):6 59-64
31. **Boxer L.A. :** Familial Mediterranean Fever; In Cecil Textbook of Medicine, 21st edition; Goldman L and Bennett JC eds, WB Sauunders Company; 916-917
32. **Shinar Y., Livneh A., Langevitz P. ve ark. :** Genotype-phenotype assessment of common genotypes among patients with familial Mediterranean fever, J Rheumatol. 2000; 27(7): 1703-1707
33. **Pras M. :** Cloning of the familial Mediterranean fever gene: expectations for learning about the pathogenesis of amyloid A amyloidosis, Adv Nephrol Necker Hosp. 1998; 28: 343-354
34. **Dilşen N. :** Ailevi Akdeniz Ateşi İç Hastalıkları Cilt 2, Editör Kemalettin Büyüköztürk, Bölüm 302, Nobel Tıp Kitapevi İstanbul 2 2007: 2767-2771
35. **Sayarlioglu M., Cefle A., Inanc M., ve ark. :** Characteristics of patients with adult-onset familial Mediterranean fever in Turkey: analysis of 401 cases, Int J Clin Pract. 2005; 59(2): 202-205
36. **Fonnesu C., Cerquaglia C., Giovinale M. ve ark. :** Familial Mediterranean Fever: A review for clinical management Joint Bone Spine 76; 2009; 227-233
37. **Kogan A., Shinar Y., Lidar M., ve ark. :** Common MEFV mutations among Jewish ethnic groups in Israel: high frequency of carrier and phenotype III states and

absence of a perceptible biological advantage for the carrier state, *Am J Med Genet.* 2001 15;102(3):272-276

38. Langevitz P., Livneh A., Padeh S., ve ark. : Familial Mediterranean fever: new aspects and prospects at the end of the millenium, *Isr Med Assoc J.* 1999;1(1): 31-36

39. Shohat M., Magal N., Shohat T, ve ark. : Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis, *Eur J Hum Genet.* 1999;7(3): 287-292

40. Blum A., Gafni J., Sohar E., ve ark. : Amyloidosis as the sole manifestation of familial Mediterranean fever (FMF). Further evidence of its genetic nature, *Ann Intern Med.* 1962; 57: 795-799

41. Mikula M., Buller A., Sun W. ve ark. : Prevalence of known mutations in the familial Mediterranean fever gene (MEFV) in various carrier screening populations. *Genet Med.* 2008; 10(5): 349-352

42. Barakat M.H., Karnik A.M., Majeed H.W. ve ark. : Familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis) in Arabs--a study of 175 patients and review of the literature, *Q J Med.* 1986; 60(233): 837-847

43. Yalçinkaya F., Cakar N., Misirlioğlu M. ve ark. : Genotype-phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis, *Rheumatology (Oxford).* 2000; 39(1): 67-72

44. Lidar M., Livneh A. : Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements, *Netherlands The Journal of Medicine*, 2007, Vol. 65, No. 9 ;318-24

45. Kaplan E., Mukamel M., Barash J., ve ark. : Protracted febrile myalgia in children and young adults with familial Mediterranean fever: analysis of 15 patients and suggested criteria for working diagnosis, *Clin Exp Rheumatol.* 2007; 25(4 Suppl 45): 114-117

46. Booth D.R., Gillmore J.D., Lachmann H.J., ve ark. : The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever, *QJM.* 2000; 93(4): 217-221

47. Schwabe A.D., Peters R.S. : Familial Mediterranean Fever in Armenians. Analysis of 100 cases, *Medicine (Baltimore).* 1974; 53(6): 453-462

- 48. Pras E., Livneh A., Balow Jr J.E., ve ark. :** Clinical differences between North African and Iraqi Jews with familial Mediterranean fever. *Am J Med Genet* 1998; 75: 216-219
- 49. Yonem O., Bayraktar Y. :** Secondary amyloidosis due to FMF, *Hepatogastroenterology*. 2007;54(76):1061-1065
- 50. Tuglular S., Yalcinkaya F., Paydas S., ve ark.:** A retrospective analysis for aetiology and clinical findings of 287 secondary amyloidosis cases in Turkey, *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(11):2003-2005
- 51. Cefle A., Kamali S., Sayarlioglu M., ve ark. :** A comparison of clinical findings of familial Mediterranean fever patients with and without amyloidosis, *Rheumatol Int*. 2005; 25(6): 442-446
- 52. Touitou I., Picot M.C., Domingo C. ve ark. .:** The MICA region determines the first modifier locus in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*. 2001;44(1):163-169
- 53. Mimouni A., Magal N., Stoffman N. ve ark. :** Familial Mediterranean fever: effects of genotype and ethnicity on inflammatory attacks and amyloidosis, *Pediatrics*. 2000; 105(5): E70
- 54. Cazeneuve C., Ajrapetyan H., Papin S., ve ark. :** Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever, *Am J Hum Genet*. 2000; 67(5): 1136-1143
- 55. Ozdogan H., Arisoy N., Kasapçapur O. ve ark.:** Vasculitis in familial Mediterranean fever, *J Rheumatol*. 1997; 24(2): 323-327
- 56. Rabinovich E., Shinar Y., Leiba M., ve ark. :** Common FMF alleles may predispose to development of Behcet's disease with increased risk for venous thrombosis, *Scand J Rheumatol*. 2007; 36(1): 48-52
- 57. Atagunduz P., Ergun T., Direskeneli H. :** MEFV mutations are increased in Behçet's disease (BD) and are associated with vascular involvement, *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(4 Suppl 30): 35-37
- 58. Bhat A., Naguwa S.M., Gershwin M.E. :** Genetics and New Treatment Modalities for Familial Mediterranean Fever *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2007;1110: 201–208

- 59. The French FMF Consortium:** A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat. Genet.* 1997; 17(1); 25-31
- 60. The Internatioanl FMF Consortium:** Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause famlial Mediterranean fever. *Cell.* 1997;90(4);797-807
- 61. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM) :**McKusic-Nathans Institute for Genetic Medicine, John Hopkins University (Baktimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library for Medicine (Bethesda, MD), 2000. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
- 62. Fairbrother W.J., Gordon N.C., Humke E.W., ve ark. :** The PYRIN domain: a member of the death domain-fold superfamily. *Protein Sci.* 2001;10(9):1911-1918
- 63. Papin S., Duquesnoy P., Cazeneuve C. ve ark. :** Alternative splicing at the MEFV locus involved in familial Mediterranean fever regulates translocation of the marenostin/pyrin protein to the nucleus. *Human Molecular Genetics* 2000; 9: 3001–3009
- 64. Notarnicola C., Didelot M-N., Kone-Paut I. ve ark. :** Reduced MEFV messenger RNA expression in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis & Rheumatism* 2002;46: 2785–2793
- 65. Henry J., Mather I.H., McDermott M.F. ve ark. :** B30.2-like domain proteins: update and new insights into a rapidly expanding family of proteins. *Mol Biol Evol.* 1998;15(12):1696-1705
- 66. Centola M., Aksentijevich I., Kastner D.L. :** The hereditary periodic fever syndromes: molecular analysis of a new family of inflammatory diseases. *Hum Mol Genet.* 1998;7(10):1581-1588
- 67. INFEVERS database,** <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/> (Son erişim tarihi: 9.12.2010)
- 68. Cazeneuve C., Sarkisian T., Pecheux C. ve ark.:** MEFV-gene analysis in Armenian patients with familial Mediterranean fever diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype – genetic and therapeutic implications. *American Journal of Human Genetics* 1999;65: 88–97

- 69. Richards N., Schaner P., Diaz A., ve ark:** Interaction between pyrin and the apoptotic speck protein (ASC) modulates ASC- induced apoptosis. J Biol Chem, 2001;19: 39320-39329
- 70. Padeh, S. :** Periodic Fever Syndromes. Pediatr Clin N Am 2005; 52 577– 609
- 71. Aris Çakiris :** Ailevi Akdeniz Ateşine bağlı inflammatuvar ataklarda ASC, CASP1 ve IL1B Genlerinin Ekspresyonlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, 2006
- 72. Abbas A.K., Lichtman A.H. :** Cellular and Molecular Immunology, 5th ed. s.281
- 73. Ben-Chetrit E., Levy N. :** Colchicine: 1998 Update, Seminars in Arthritis and Rheumatism, 1998;Vol 28, No 1: 48-59
- 74. Cerquaglia C., Diaco M., Nucera G., ve ark. :** Pharmacological and Clinical Basis of Treatment of Familial Mediterranean Fever (FMF) with Colchicine or Analogues: An Update, Current Drug Targets - Inflammation & Allergy, 2005; Vol. 4, No. 1: 117-124
- 75. Bhattacharyya B., Panda D., Gupta S., ve ark. :** Anti-Mitotic Activity of Colchicine and the Structural Basis for Its Interaction with Tubulin, Medicinal Research Reviews, 2008; Vol. 28, No. 1, 155-183
- 76. Tateishi T., Soucek P., Caraco Y., ve ark. :** Colchicine Biotransformation by Human Liver Microsomes, Biochemical Pharmacology, 1997; Vol. 53, 111-116
- 77. Niel E., Scherrmann J.M. :** Colchicine today, Joint Bone Spine 73 2006; 672– 678
- 78. Bertram G. Katzung:** Basic & Clinical Pharmacology, 9th Edition
- 79. Robert A. Terkeltaub:** Colchicine Update: 2008, Semin Arthritis Rheum 2009; 38: 411-419
- 80. Chappey O., Niel E., Dervichian M. ve ark. :** Colchicine concentration in leukocytes of patients with familial Mediterranean fever, Br J clin Pharmac 1994; 38: 87-89
- 81. Wallace S.L., Omokoku B., Ertel NH. :** Colchicine plasma levels. Implications as to pharmacology and mechanism of action. Am J Med 1970;48: 443–448
- 82. Rochdi M., Sabouraud A., Girre C., ve ark. :** Pharmacokinetics and absolute bioavailability of colchicine after i.v. and oral administration in healthy human volunteers and elderly subjects. Eur J Clin Pharmacol 1994; 46: 351–354

- 83. Rochdi M., Sabouraud A., Baud F.J., ve ark. :** Toxicokinetics of colchicine in humans: analysis of tissue, plasma and urine data in 10 cases. *Hum Exp Toxicol* 1992; 11: 510–6.8
- 84. Luduena R.F. :** Biochemistry of tubulin. In: Robert K, Hyams JS, editors. *Microtubules*. New York: Academic Press; 1979; 65–93
- 85. Race T.F., Paes I.C., Faloon W.W. :** Intestinal malabsorption induced by oral colchicine. Comparison with neomycin and cathartic agents. *Am J Med Sci* 1970; 259: 32–41
- 86. Kuncel R.W., Duncan G., Watson D., ve ark.:** Colchicine myopathy and neuropathy. *N Engl J Med* 1987; 316: 1562–1568
- 87. Özkan E., Okur Ö., Ekmekçi A., ve ark. :** A new approach to the treatment of periodic fever, *Med Bull İstanbul* 1972; 5- 44-49
- 88. Goldfinger S.E. :** Treatment of gout. *N Engl J Med*. 1971; 2; 285(23): 1303-1306
- 89. Melamed I., Shemer Y., Zakuth V., ve ark. :** The immune system in familial Mediterranean fever, *Clin. exp. Immunol.* 1983; 53, 659-662
- 90. Dinarello C.A., Chusid M.J., Fauci A.S., ve ark. :** Effect of prophylactic colchicine therapy on leukocyte function in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1976; 19(3): 618-622
- 91. Eliakim M., Levy M. :** Recurrent polyserositis. *Familial Mediterranean Fever. Periodic disease*. Amsterdam: Elsevier 1981; 1-203
- 92. Sabouraud A., Rochdi M., Urtizberea M., ve ark. :** Pharmacokinetics of colchicine; A review of experimental and clinical data. *Z. Gastroenterol* 1992; 30: 35-39
- 93. Bar-Eli M., Ehrenfeld M., Levy M., ve ark. :** Leukocyte chemotaxis in recurrent polyserositis (familial Mediterranean fever). *Am J med Sci* 1981; 281: 15-18
- 94. Ferron G.M., Rochdi M., Jusko W.J., ve ark. :** Oral absorption characteristics and pharmacokinetics of colchicine in healthy volunteers after single and multiple doses. *J Clin Pharmacol* 1996; 36: 874-883
- 95. Mizutani T., Masuda M., Nakai E., ve ark.:** Genuine functions of P-glycoprotein (ABCB1). *Curr Drug Metab* 2008; 9: 167-174

- 96. Marchetti S., Mazzanti R., Beijnen J.H., ve ark. :** Concise review: clinical relevance of drug-drug and herb-drug interactions mediated by the ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Oncologist* 2007; 12: 927-941
- 97. Loo T.W., Bartlett C.M., Clarke D.M. :** Substrate-induced conformational changes in the transmembrane segment of human P-glycoprotein. *J Biol Chem* 2003;278(16):13603-6
- 98. Wrighton S.A., Stevens J.C. :** The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Crit Rev Toxicol* 1992; 22: 1–21
- 99. Sundberg M.I., Antona C.S. :** Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective drug therapy, *Phil. Trans. R. Soc. B* 2005;360, 1563–1570
- 100. Modrianski M., Dvořák Z.:** Microtubule disruptors and their interaction with biotransformation enzymes, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2005, 149(2): 213–215
- 101. Anzenbacher P., Anzenbacherova E. :** Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58, 737–747
- 102. Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., ve ark. :** Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414–423
- 103. Gellner K., Eiselt R., Hustert E., ve ark. :** Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new, inducible CYP3A gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 111– 121
- 104. Matsumura K., Saito T., Takahashi Y. ve ark.:** Identification of a Novel Polymorphic Enhancer of the Human CYP3A4 Gene, *Mol Pharmacol* 2004; 65: 326–334
- 105. Beaune P.H., Umbenhauer D.R., Bork R.W., ve ark. :** Isolation and sequence determination of a cDNA clone related to human cytochrome P-450 nifedipine oxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 8064–8068
- 106. Watkins P.B., Wrighton S.A., Schuetz E.G., ve ark. :** Identification of glucocorticoid-inducible cytochromes P-450 in the intestinal mucosa of rats and man., *J Clin Investig* 1987; 80:1029–1036

- 107. Li A.P., Kaminski D.L., Rasmussen A. :** Substrates of human hepatic cytochrome P450 3A4., *Toxicology* 1995; 104: 1–8
- 108. Westlind A., Lofberg L., Tindberg N., ve ark:** Interindividual differences in hepatic expression of CYP3A4: relationship to genetic polymorphism in the 5'-upstream regulatory region. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 259: 201–205
- 109.** URL: <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/cyp3a4.htm> (Son erişim: 08.01.2011)
- 110. Nebert D.W., Eisen H.J., Hankinson O. :** The Ah receptor: binding specificity only for foreign chemicals? *Biochem Pharmacol*, 1984;33, 917–924
- 111. Goodwin B., Hodgson E., Liddle C. :** The orphan human pregnane X receptor mediates the transcriptional activation of CYP3A4 by rifampicin through a distal enhancer module. *Mol Pharmacol* 1999; 56, 1329–1339
- 112. Negishi M., Honkakoski M. :** Induction of drug metabolism by nuclear receptor CAR: molecular mechanisms and implications for drug research. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11, 259–264
- 113. Pascussi J.M., Dvorak Z., Gerbal-Chaloin S., ve ark. :** Regulation of xenobiotic detoxification by PXR, CAR, GR, VDR and SHP receptors: Consequences in physiology. In: Starke K, editor. *Transcription factors*. Berlin: Springer-Verlag, 2004; 409–35
- 114. Martínez-Jiménez C.P., Jover R., Donato M.T., ve ark. :** Transcriptional Regulation and Expression of CYP3A4 in Hepatocytes, *Current Drug Metabolism*, 2007; 8, 185-194
- 115. Tateishi T., Soucek P., Caraco Y., ve ark. :** Colchicine biotransformation by human liver microsomes. Identification of CYP3A4 as the major isoform responsible for colchicine demethylation. *Biochem Pharmacol* 1997; 53, 111-116
- 116. Ian P. Hall, Munir Pirmohamed:** *Pharmacogenetics*, Taylor & Franscis, 144
- 117. Szakacs G., Chen G.K., Gottesman M.M., :** The molecular mysteries underlying P-Glycoprotein-mediated multidrug resistance, *Cancer biology&therapy* 2004; 3:4, 382-384
- 118. Ambudkar S.V., Sarfaty C.K., Sauna Z.E. ve ark. :** P-glycoprotein: from genomics to mechanism, *Oncogene* 2003; 22, 7468–7485
- 119. Juliano R.L., Ling, V. :** A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta* 1976; 455, 152–162

- 120. Gerlach, J.H. ve ark. :** Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. *Nature* 1986;324, 485–489
- 121. Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. :** Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 48–58
- 122. Ueda K. :** The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986; 141, 956–962
- 123. Callen D., Baker E., Simmers R., ve ark.:** Characterization of the human multiple drug resistance gene, *MDR1*, to 7q21.1. *Hum. Genet.*, 1987;77, 122-126
- 124. Bodor M., Kelly E.J., ve Ho R.J.:** Characterization of the Human *MDR1* Gene, *The AAPS Journal* 2005; 7 (1) Article 1
- 125. Sakaeda T. :** *MDR1* genotype-related pharmacokinetics: fact or fiction? *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005; 20 (6): 391-414
- 126. Scotto K.W., Johnson R.A. :**Transcription of the multidrug resistance gene *MDR1*: a therapeutic target. *MolInterv.* 2001; 1 (2): 117-125
- 127.**URL:<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCB1&search=MDR1>
(Son erişim tarihi: 26.12.2010)
- 128. Rosenberg M.F., Callaghan R., Ford R.C., ve ark. :** Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein to 2.5 nm resolution determined by electron microscopy and image analysis. *J Biol Chem* 1997; 272: 10685–10694
- 129. Ambudkar S.V., Dey S., Hrycyna C. A., ve ark. :** Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1999; 39, 361-398
- 130. Alexandrova R. :** Multidrug Resistance and P-Glycoprotein. *Bulgarian Academy of Sciences.* 1998; 1: 62-66
- 131. Zhou S.F. :** Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica.* 2008; 38 (7-8): 802-832
- 132. Leschziner G.D., Andrew T., Pirmohamed M. ve ark. :** *ABCB1* genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research, *The Pharmacogenomics Journal* 2007; 7, 154–179

133. Broxterman HJ., Pinedo HM., Kuiper CM., ve ark. : Induction by verapamil of a rapid increase in ATP consumption in multidrug-resistant tumor cells. *Faseb J.* 1988; 2 (7): 2278-2282
134. Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O., ve ark.: Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 3473–3478
135. Cmejlova J., Hildinger M., Cmejla R., ve ark.: Impact of splice-site mutations of the human MDR1 cDNA on its stability and expression following retroviral gene transfer. *Gene Therapy* 2003; 10: 1061–1065
136. Brinkmann U., Roots I. ve Eichelbaum M. : Pharmacogenetics of the human drug-transporter gene MDR1: impact of polymorphisms on pharmacotherapy. *Drug Discov. Today*, 2001;6, 835–839
137. Saito S., Iida A., Sekine A., ve ark. : Three hundred twenty-six genetic variations in genes encoding nine members of ATP-binding cassette, subfamily B (ABCB/MDR/TAP), in the Japanese population. *J. Hum. Genet.*, 2002;47, 38–50
138. Evans W.E., McLeod H.L. : Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N. Engl. J. Med.*, 2003;348, 538–549
139. Schwab M., Eichelbaum M., Fromm M.F. : Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter.. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2003;43, 285–307
140. Wang H., Ding K., Zhang Y. ve ark. : Comparative and evolutionary pharmacogenetics of ABCB1: complex signatures of positive selection on coding and regulatory regions, *Pharmacogenetics and Genomics* 2007, 17:667–678
141. Marzolini C., Paus E., Buclin T., ve ark. : Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 13–33
142. Chinn L.W., Kroetz D.L. : ABCB1 pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 265–269
143. Ameyaw M.M., Regaterio F., Li T., ve ark. : MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 217–221

- 144. Tanabe M., Ieri I., Nagata N., ve ark. :** Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR1) gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297(3): 1137–1143
- 145. Hitzl M., Drescher S., Kuip H., ve ark. :** The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the Pglycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics* 2001;11: 293–298
- 146. Kaya P., Gündüz U., Arpacı F. ve ark. :** Identification of Polymorphisms on the MDR1 Gene Among Turkish Population and Their Effects on Multidrug Resistance in Acute Leukemia Patients, *American Journal of Hematology* 2005; 80: 26–34
- 147. Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O., ve ark. :** Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97 (7): 3473-3478
- 148. Li Y.H., Wang Y.H., Li Y., ve ark. :** MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance. *Yi Chuan Xue Bao*. 2006; 33(2): 93-104
- 149. Cascorbi I., Gerloff T., John A., ve ark. :** Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3): 169–174
- 150. Thiebaut F., Tsuruo T., Hamada H., ve ark. :** Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 7735–7738
- 151. Schinkel A.H., Wagenaar E., Mol C.A., ve ark. :** P-glycoprotein in the blood–brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J Clin Invest* 1996; 97: 2517–2524
- 152. Gupta S., Tsuruo T. :** Multidrug resistance in cancer cells. Molecular biochemical physiological and biological aspects. New York: John Wiley & Sons; 1996. 507
- 153. Mickley M.A., Spengler B.A., Knutsen T.A., ve ark. :** Gene rearrangement: a novel mechanism for MDR-1 gene activation, *J Clin Invest* 1997; 99-1947-57

154. **Shen D.W., Fojo A., Chin J.E. ve ark. :** Human multidrug-resistant cell lines: increased *mdr1* expression can precede gene amplification. *Science*. 1986 2; 232(4750): 643-645
155. **Scotto KW. :** Transcriptional regulation of ABC drug transporters. *Oncogene*. 2003; 20; 22(47): 7496-511
156. **Ueda K., Yoshida A., Amachi T. :** Recent progress in P-glycoprotein research. 1999, *Anti-Cancer Drug Des.*, 1999; 14, 115-121
157. **Ramachandran M., Melnick S. J. :** *Mol. Diagn.*, 1999; 4, 81-94
158. **Persidis A. :** Cancer multidrug resistance., *Nature Biotechnol.*, 1999;17, 94-95.
- Szabo D., Keyzer H., Kaiser H. E. ve ark. :** Reversal of multidrug resistance of tumor cells., *Anticancer Res.*, 2000; 20, 4261-427
159. **Bradshaw D. M., Arceci R. J. :** Clinical relevance of transmembrane drug efflux as a mechanism of multidrug resistance., *J. Clin. Oncol.*, 1998; 16, 3674-3690
160. **Ford J. M. :** P-glycoprotein-mediated multidrug resistance: experimental and clinical strategies for its reversal., *Eur. J. Cancer*, 1996; 32A, 991-1001
161. **Sarkadi B., Müller M. :** Search for specific inhibitors of multidrug resistance in cancer., *Semin. Cancer Biol.*, 1997; 8, 171-182
162. **Sakaeda T., Nakamura T., Okumura K. :** MDR1 Genotype-Related Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, *Biol. Pharm. Bull.* 2002; 25(11) 1391-1400
163. **Fromm M. F., Eichelbaum M. :** "Pharmacogenomics. The Search for Individualized Therapies," ed. by Licinio J., Wong M.-L., Wiley- VCH Verlag GmbH, Germany, 2002, 159-178
164. **Ben-Chetrit E., Levy M. :** Does the lack of the P-glycoprotein efflux pump in neutrophils explain the efficacy of colchicine in familial Mediterranean fever and other inflammatory diseases?, *Medical Hypotheses* 1998; 51, 377-380
165. **Klimecki W. T., Futscher B. W., Grogan T. M., ve ark. :** P-glycoprotein expression and function in circulating blood cells from normal volunteers. *Blood*, 1994; 83, 2451-2458
166. **Drach J., Gsur A., Hamilton G., ve ark. :** Involvement of P-glycoprotein in the transmembrane transport of interleukin-2 (IL-2), IL-4, and interferon-gamma in normal human T lymphocytes. *Blood*, 1996; 88, 1747-1754

- 167. Johnstone R. W., Ruefli A. A., Smyth M. J. :** Equivalent death of P-glycoprotein expressing and nonexpressing cells induced by the protein kinase C inhibitor staurosporine., Trends Biochem. Sci., 2000; 25, 1-6
- 168. Johnstone R. W., Ruefli A. A., Tainton K. M., ve ark. :** A role for P-glycoprotein in regulating cell death. Leukemia Lymphoma, 2000 ; 38, 1-11
- 169. Bezombes C., Maestre N., Laurent G., ve ark. :** Restoration of TNF-alpha-induced ceramide generation and apoptosis in resistant human leukemia KG1a cells by the P-glycoprotein blocker PSC833. FASEB J., 1998; 12, 101-109
- 170. Los M., Herr I., Friesen C., ve ark. :** Cross-resistance of CD95- and drug-induced apoptosis as a consequence of deficient activation of caspases (ICE/Ced-3 proteases). Blood, 1997; 90, 3118-3129
- 171. Smyth M. J., Krasovskis E., Sutton V. R., ve ark. :** The drug efflux protein, P-glycoprotein, additionally protects drug-resistant tumor cells from multiple forms of caspase-dependent apoptosis, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1998; 95, 7024-7029
- 172. Sakaeda T., Nakamura T., Hirai M., ve ark. :** MDR1 up-regulated by apoptotic stimuli suppresses apoptotic signaling. Pharm Res. 2002; 19(9): 1323-1329

8. EKLER

EK 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ETİK KURULU
BOLU

SAYI : 95
KONU: Sonuç

12.05.09

Sayın, Yrd.Doç. Dr. Esra TUĞ
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı

Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Alt Kurulu tarafından 2009/100-39 no.lu
“CYP3A4 ve MDR1 Gen Polimorfizmlerinin Kolşisin Farmakogenetiği Üzerindeki
Etkinliğinin Ailevi Akdeniz Ateşi Tedavisindeki Rolü” çalışmanız etik olarak uygun
bulunmuştur.

Bilgilerinize sunulur. Saygılarımla.

Prof. Dr. Aysel KÜKNER
Tıbbi Etik Genel Kurul Başkanı