



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ TANISIYLA TAKİP EDİLEN HASTALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Dr. Emin Murat KARPUZOĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ**

ADANA-2018



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ TANISIYLA TAKİP EDİLEN HASTALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Dr. Emin Murat KARPUZOĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından
TTU-2015-4057 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2018

TEŞEKKÜR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan değerli hocalarıma,

Tez sürecimde, atlattığı ağır hastalığa rağmen bilimsel çalışmalarına yılmadan devam eden ve zor çözümlü pek çok hastalığın tedavisinde yol göstermeye devam eden, iyi hekimliğinin yanı sıra sabrına ve alçak gönüllülüğüne de hayran olduğum ve tezimi hazırlarken her türlü desteğini ve emeğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a,

Çalışmada hastaların genetik tetkiklerinin yapılması ve değerlendirilmesi aşamasında her konuda yardımlarını esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Atıl Bişgin ve tüm genetik ekibine,

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bıkmadan bana yol gösteren, eksik ve hatalarımı tekrar tekrar gözden geçirerek düzeltmeme yardımcı olan Çocuk Romatoloji yan dal asistanları Uzman Dr. Miray Kışla EKİNCİ ve Uzman Dr Sibel BALCI'ya,

Çalışkanlığı ve pratikliğiyle takdir ettiğim ve veri toplama aşamasında bizzat çalışarak tezime katkı sağlayan Araştırma Görevlisi Dr Gökçe İPLİK'e,

Yoğun çalışma temposu içerisinde birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm yandal asistanı, asistan, hemşire, personel ve intern arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında bana güç veren, en başta sevgili eşim Zeliha Yasemin KARPUZOĞLU'na ve bu yoğun süreçte ellerinden geldiği kadar bana destek olmaya çalışan sevgili kızlarım Elif Naz KARPUZOĞLU ve Ayşe Naz KARPUZOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLOLAR LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.1. Ailevi Akdeniz Ateşi.....	1
1.2. MikroRNA(miRNA)	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe.....	3
2.1.2. Genetik	3
2.1.3. Patogenez.....	6
2.1.4.1. Akut Atakta Gözlenen Bulgular.....	10
2.1.4.1.1. Ateş	10
2.1.4.1.2. Karın Ağrısı.....	10
2.1.4.1.3.Artrit.....	11
2.1.4.1.4. Plevrit	11
2.1.4.1.5. Perikardit.....	12
2.1.4.1.6. Eritem.....	12
2.1.4.1.7. Splenomegali.....	12
2.1.4.1.8. Myalji	12
2.1.4.1.9. Orşit.....	13
2.1.4.2. Kronik Komplikasyonlar ve Hedef Organ Hasarı.....	13
2.1.4.2.1. Amiloidoz ve Böbrek Yetmezliği	13
2.1.4.2.2. Tekrarlayan Uzamış Febril Myalji ve Sık Steroid İhtiyacı	14
2.1.4.2.3. Persistan Artrit	14
2.1.4.3. Eşlik Edebilen Diğer Hastalıklar.....	15
2.1.4.3.1. Henoch Schonlein Purpurası	15
2.1.4.3.2. Poliarteritis Nodosa.....	15
2.1.5. Laboratuvar İncelemeleri.....	16
2.1.6. Ayırıcı Tanı	16
2.1.6.1. TRAPS	16
2.1.6.2. HIDS	17
2.1.6.3. CAPS.....	18
2.1.6.3.1. FCAS.....	18
2.1.6.3.2. MWS	18
2.1.6.3.3. NOMID (CINCA)	19
2.1.6.4.PFAPA	20
2.1.6.5. Tanı Kriterleri	21
2.1.7. Tedavi	23
2.1.7.1. Kolşisin	23
2.1.7.2. Biyolojik Ajanlar.....	26

2.1.7.2.1. Anakinra	27
2.1.7.2.2. Canakinumab.....	27
2.1.7.2.3. Rilonacept	27
2.1.8. Kolşisine Dirençli AAA	28
2.1.9. Hastalık Aktivitesi	28
2.1.10. Hasar Değerlendirilmesi.....	29
2.1.11. AAA’da İleri Araştırma Konuları	30
2.2. MikroRNA (miRNA).....	30
2.2.1. miRNA Biyogenez ve Fonksiyonu;.....	31
2.2.2. Romatolojik Hastalıklarda miRNA’lar.....	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Çalışmaya Alınan Olguların Seçimi ve Grupların Oluşturulması.....	35
3.2. Olguların İncelenmesi ve Uygulamalar	36
3.3. miRNA Çalışma Yöntemi	37
3.3.1. Total RNA İzolasyonu.....	37
3.3.2. cDNA Reaksiyonun Hazırlanması	38
3.3.3. miRNA Analizi.....	39
3.3.3.1. Preamplifikasyon Reaksiyonunun Hazırlanması	39
3.3.3.2. RT-PCR Mix ve Primer Hazırlanması	40
3.3.4. miRNA Analizi için İstatiksel Analiz.....	41
3.3.5. miRNA ve Gen Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması	42
3.4. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Genel Demografik Özellikler.....	43
4.2. Klinik Bulgular.....	43
4.3. MEFV Genetik Sonuçları.....	44
4.4. MEFV Gen Sonuçlarına Göre AAA Hastalarının Gruplandırılması Ve Demografik ve Klinik Özelliklerinin karşılaştırılması.....	45
4.5. AAA Hastalarında Eşlik Eden Hastalıklar	49
4.6. AAA Hastalarında miRNA Analizi	50
4.6.1. Çalışılacak miRNA’ların Saptanması.....	50
4.6.2. miRNA Analiz Sonuçları	51
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇLAR.....	68
7. KAYNAKLAR	69
8. EKLER.....	94
8.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Aile Onam Formu.....	94
8.2. Ek 2. Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısıyla Takip Edilen Hastalar İçin Veri Toplama Formu	95
8.3. Ek 3. Etik Kurul Onamı	97
9. ÖZGEÇMİŞ	98

TABLÖLER LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. AAA genetik teşhisi için öneriler	6
Tablo 2. İnflamazomopatiler ile ilişkili monogenik otoenflamatuar hastalıklar	7
Tablo 3. AAA klinik bulgu, eşlik eden hastalık ve komplikasyonları	10
Tablo 4. Tel hashomer kriterleri (uzun versiyon)	22
Tablo 5. Tel hashomer kriterleri (kısa versiyon)	22
Tablo 6. Livneh kriterleri (basitleştirilmiş)	23
Tablo 7. Yalçinkaya-özen pediatrik AAA kriterleri	23
Tablo 8. AAA yönetiminde uzlaş, kanıt seviye ve tavsiye derecesi ile birlikte EULAR tavsiyeleri	25
Tablo 9. FMF 50 yanıtı	28
Tablo 10. AAA için uluslararası şiddet skorlama sistemi (UŞSS)	29
Tablo 11. AAA hastalarının genel demografik ve klinik özellikleri	44
Tablo 12. AAA hastalarında saptanan mutasyonlar ve allel frekansları	44
Tablo 13. AAA hastalarının gruplara göre MEFV mutasyon dağılım tablosu-1	46
Tablo 14. AAA hastalarının gruplara göre MEFV mutasyon dağılım tablosu-2	46
Tablo 15. Mutasyon gruplarına göre AAA demografik hasta verileri	47
Tablo 16. AAA hastaları M694V homozigotlar ile diğerleri demografik özellik karşılaştırması	48
Tablo 17. Ekzon 10 mutasyonu içermesine göre gruplandırılmış demografik hasta verileri	48
Tablo 18. AAA hastalarında eşlik eden hastalık ve komplikasyonlar	50
Tablo 19. Ekspresyon çalışmasına dahil edilen miRNA'lar	51
Tablo 20. miRNA ekspresyon düzeyleri deney ve kontrol grupları ortalamaları ve standart sapmaları	51
Tablo 21. miRNA ifade düzeyindeki kat değişimleri	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. MEFV genindeki AAA ile ilişkili mutasyonların şematik bir temsili	4
Şekil 2 Kaspaz-1 aktivasyonu ve etkileri.....	8
Şekil 3. Sık görülen periyodik ateş hastalıklarında ayırıcı tanı	20
Şekil 4. miRNA oluşum basamakları	31
Şekil 5. 96.96 Flexsix GEchipin (Foto A)	41
Şekil 6. Flexsix GE Chipi Fludigm (Biomark)(Foto B).....	41
Şekil 7. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan miRNA'lara ait kat değişimleri.....	53



KISALTMALAR LİSTESİ

AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi
AFR	: Akut Faz Reaktanları,
ALT	: Alanin Transaminaz
AST	: Aspartat Transaminaz
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BUN	: Kan Üre Azotu
CAPS	: Kryopyrin İlişkili Periyodik Sendrom
CINCA	: Kronik İnfantil Nörolojik Kutanöz Ve Artiküler Sendrom
CPK	: Kreatinin Fosfokinaz,
Cr	: Kreatinin
CRP	: C Reaktif Protein
ÇÜTF	: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
DEHAB	: Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EMG	: Elektromiyografi
ESH	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
EULAR	: Romatizmaya Karşı Avrupa Birliği
FCAS	: Ailesel Soğuk Otoenflamatuvar Sendrom
G6PDH	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
GH	: Büyüme Hormonu
HIDS	: Hiper İmmünglobulin D Send
HMARİ	: Hastalık Modifiye Edici Antiromatizmal İlaçlar
HSP	: Henoch Schonlein Purpura
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Hormonu-1
IgG1	: İmmünglobulin G1
IL-1	: İnterlökin-1
IRAK1	: IL-1 Reseptör İlişkili Kinaz 1
JİA	: Juvenil İdiopatik Artrit
LPS	: Lipopolisakkarit

MEFV geni	: Ailevi Akdeniz Ateşi geni(MEditerranian FeVer)
MVK	: Mevalonat Kinaz
MWS	: Muckle-Wells Send
NLRP3	: NOD Benzeri Reseptör Proteini 3
NOMID	: Neonatal Başlangıçlı Multisistem Enflamatuvar Hastalık
NSAİİ	: Steroid Dışı Anti Enflamatuvar İlaçlar
OHA	: Orak Hücreli Anemi
PAN	: Poliarteritis Nodoza
PFAPA	: Periyodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit ve Adenit
PGE2	: Prostaglandin E2
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
PTR	: Patojen Tanıyıcı Reseptör
RISC	: RNA İle İndüklenen Susturma Kompleksi
RNA	: Ribonükleik Asit
SAA	: Serum Amiloid-A
SHARE	: Single Hub and Access Point for Pediatric Rheumatology in Europe
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TRAF6	: TNF Reseptör İlişkili Faktör 6
TRAPS	: Tümör Nekrozis Faktör Reseptör İlişkili Periyodik Sendrom
UFMS	: Uzamış Febril Miyalji Sendromu

ÖZET

Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısıyla Takip Edilen Hastaların Genel Özellikleri

Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi hereditör otozomal resesif kalıtmı olduğu bilinen otoenflamatuar bir hastalıktır. Tekrarlayan ateş yüksekliği ve serozit atakları ile karakterize olan hastalık aynı genotipte olan hastalarda farklı klinik seyir gösterebileceği gibi, hastaların önemli bir kısmının MEFV geninde tek mutasyon görülmüştür. Bu hastalardaki patogenetik mekanizmalar ise net olarak bilinmemektedir.

miRNA'lar gelişim, farklılaşma, hücre proliferasyonu, apoptozis, stres cevabı ve birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynayan ve hedef genlerinin ekspresyonunu düzenleyen küçük, düzenleyici RNA molekülleri olarak tanımlanmışlardır. AAA hastalığı patogenezinde rol alan modifiye edici faktörler ve mikroRNA (miRNA)'lar henüz net olarak ortaya konmamıştır. Biz de bu çalışmamızda çocukluk çağı AAA hastalarının genel özelliklerini, genotiplerini ve hastalık patogenezinde rol alan miRNA'ları belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve yöntemler: Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Romatoloji polikliniği tarafından AAA tanısıyla takipli olup kolşisin tedavisi almaya devam eden, Mart 2017 ile Temmuz 2017 tarihleri arasında ilgili polikliniğe başvuran hastalardan, çalışma için onam alınan 351 hasta dahil edilmiştir. Tüm hastalar dosyaları üzerinden taranarak demografik ve klinik özellikleri, mutasyonları saptandı. Çalışmaya katılmayı kabul eden 191 hastadan ve 31 sağlıklı kontrolden, özellikle apoptozis ile ilişkili olduğu değerlendirilen 33 miRNA'nın analizi yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 351 AAA hastamızda, R202Q allel frekansını (% 38,5), M694V mutasyonu allel frekansından (% 29,5) daha yüksek oranda saptadık. Ancak M694V homozigot hasta grubunda hastalık başlangıç yaşını daha küçük, kolşisine tam yanıt oranını daha az bulduk. Tedavi sonrası yıllık atak sayısı, artrit sıklığı, eforla ekstremitte ağrısı, son kontrolde AFR yüksekliği, ailede AAA hastalığı öyküsü, anne-baba akrabalığı ve biyolojik ajan kullanımı da anlamlı olarak M694V Homozigot grupta daha yüksek görüldü.

miRNA analizleri sonucunda 14 miRNA'nın ekspresyon profili istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulundu. Bunlardan 4 miRNA ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre artmış (miR.365a.3p, miR.181c.5p, miR.181a.5p, miR.15a.5p), 10 miRNA (miR.27a.3p, let.7g.5p, miR.146a.5p, miR.30a.5p, let.7a.5p, miR.30e.5p, let.7c, miR.30d.5p, miR.25.3p, miR.29c.3p) ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuna göre düşük saptandı.

Sonuç: Apoptozis ile ilişkili miRNA'ların AAA patogenezinde rol oynadığı düşünülebilir. Ancak ilgili miRNA'lar genotip, kolşisin kullanımı, biyolojik ajan alımı, atak durumu veya akut faz yüksekliği gibi etkenlerden etkileniyor olabilir. Bu sebeple bu konuda daha ayrıntılı ve geniş araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Ailevi Akdeniz Ateşi, R202Q, M694V, miRNA

ABSTRACT

General Characteristics of Patients Followed by Familial Mediterranean Fever

Aim: Familial Mediterranean fever (FMF) is an autosomal recessive inherited hereditary autoinflammatory disease. It is characterized by recurrent fever and serositis attacks and may show different clinical course in patients with the same genotype. A single mutation in the MEFV gene represents a significant portion of FMF patients. The pathogenetic mechanisms in these patients are not clearly known.

miRNAs are defined as small, regulatory RNA molecules that play an important role in development, differentiation, cell proliferation, apoptosis, stress response and many physiological and pathological events and regulate the expression of target genes. Modifying factors and miRNAs (miRNAs) involved in the pathogenesis of FMF have not yet been clearly identified. In this study, we aimed to determine the general characteristics, genotypes and miRNAs involved in pathogenesis of disease in childhood FMF patients.

Material and Methods: This study was conducted in Çukurova University Medical Faculty Pediatric Rheumatology outpatient department. Pediatric FMF patients admitted to the relevant polyclinic between March 2017 and July 2017 were included in the study. All patients' files were screened for demographic, clinical features and mutations. Analysis of 33 miRNAs, which were found to be particularly associated with apoptosis, were performed in 191 patients and 31 healthy controls who agreed to participate in the study.

Results: Among 351 FMF patients included in the study, we found R202Q allele frequency (38.5%), higher than M694V mutation allele frequency (29.5%). However, we found the M694V homozygous patient group with younger age of disease-onset and less complete response to colchicine. The number of annual episodes after treatment, arthritis frequency, extremity pain with effort, AFR height at last control, family history of AAA disease, parental consanguinity and use of biological agents were also significantly higher in the M694V Homozygote group.

As a result of miRNA analysis, the expression profile of 14 miRNAs was statistically different from the control group. The level of 4 miRNA expression was found to be higher than that of the control group (miR.365a.3p, miR.181c.5p, miR.181a.5p, miR.15a.5p). 10 miRNAs' (miR.27a.3p, let7.5.5p, miR.146a.5p, miR.30a.5p, let7a.5p, miR.30e.5p, let7C, miR.30d.5p, miR.25.3p, miR.29c.3p) expression levels were lower than the control group.

Conclusion: We speculate that apoptosis-associated miRNAs may play a role in FMF pathogenesis. However, owing the reason that miRNAs may be affected by factors such as genotype, use of colchicine and biological agents, attack frequency and acute phase reactant elevation, more detailed and extensive research is needed in this topic.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, R202Q, M694V, miRNA

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. Ailevi Akdeniz Ateşi

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), kendini sınırlayan, tekrarlayan, akut faz reaktanları artışının eşlik ettiği ateş ve poliserozit ataklarıyla karakterize otoenflamatuvar bir hastalıktır.^{1,2} Dünyada en yaygın görülen otoenflamatuvar hastalıktır.³⁻⁵ Doğu Akdeniz kökenli insanlar özellikle Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar arasında çok sık görülür.^{6,7}

AAA'nın en önemli ve uzun dönem morbidite ve mortaliteden sorumlu komplikasyonu amiloidozdur. Amiloidoz uzun dönemde böbrek yetmezliği nedenlerinden birisidir. Bu sebeple AAA'nın teşhis ve tedavisi önemlidir.⁸

AAA gelişimi ile ilişkili MEFV geni (MEditerraeen FeVer geni) kromozom 16p 13.3 kısa kolunda lokalizedir.⁹⁻¹¹ Her ne kadar AAA otozomal resesif bir hastalık olarak değerlendirilse de hastaların önemli bir kısmının MEFV geninde tek mutasyon görülmüştür. Bunların ne şekilde hastalık fenotipi gösterdiği ise net olarak bilinmemektedir. M694V mutasyonu hastalığın daha ağır fenotipiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu konuda serum amiloid-A (SAA) gibi diğer modifiye edici genler ve çevresel faktörlerin de rol oynadığı değerlendirilmektedir.¹²⁻¹⁴

1.2. MikroRNA(miRNA)

miRNA'lar yaklaşık 18 ila 25 nükleotid uzunluğunda küçük kodlayıcı olmayan RNA molekülleri olup çeşitli hastalıklarda gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenleyicileri olarak fonksiyon görmektedirler.¹⁵ Gen ekspresyonunda ana düzenleyici olarak değerlendirilmektedirler. Tek bir miRNA tek bir yolağı veya pek çok yolları kontrol edebilir. Son 20 yılda miRNA'lar pek çok biyolojik alanda dikkat çekmektedirler. miRNA'lar gelişim, farklılaşma, hücre proliferasyonu, apoptozis, stres cevabı ve birçok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynayan ve hedef genlerinin ekspresyonunu düzenleyen küçük, düzenleyici RNA molekülleri olarak tanımlanmışlardır. Romatolojik bozukluklarla ilişkili genleri hedef alan aday miRNA'ların tespit edilmesi ve hedef bölgedeki mutasyonun eşlik ettiği sonuçların

fenotipik ve gen ekspresyonu çalışmalarıyla değerlendirilmesi romatolojik hastalıkların moleküler mekanizmalarına ışık tutabilir.¹⁶

Hastalık patogeneğinde, fenotipik ekspresyonunda ve şiddetinde modifiye edici faktörlerin rolleri hala tam anlaşılamadığı gibi AAA hastalığı patogeneğinde rol alan mikroRNA (miRNA)'lar da henüz net olarak ortaya konmamıştır. Biz de bu alışmamızda AAA hastalığı patogeneğinde etkin rol alan miRNA'ları belirlemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailevi Akdeniz Ateşi

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

AAA, kendini sınırlayan, tekrarlayan akut faz reaktanları artışının eşlik ettiği ateş ve poliserozit ataklarıyla karakterize dünyada en sık görülen otoenflamatuar hastalıktır.¹⁻⁵ Doğu Akdeniz kökenli insanlar, özellikle Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar arasında daha çok görülür.^{6,7} Hastalığın prevalansı bu popülasyonlarda 1/250 ile 1/1000 arasında değişmektedir.^{7,17,18} Ermeni, Türk ve Yahudi nüfusları arasındaki taşıyıcı sıklığı ise 1/3 ile 1/5 arasındadır.^{18,19}

AAA, eski bir hastalık olmasına rağmen, klinik özelliklerinin anlaşılması ve tedaviye başlanması 1970 ve 1980'lerde gerçekleşmiştir. İlk kez 1972'de Goldfinger beş AAA hastasında küçük dozlarda kolşisin ile atakların önlenebildiğini bildirmiştir.²⁰

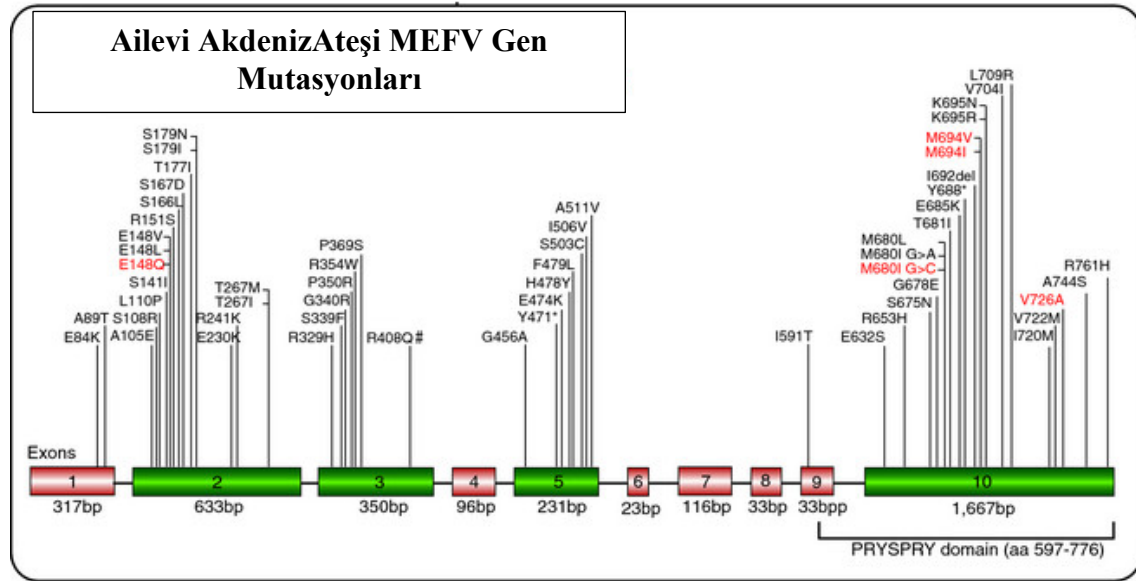
AAA'nın en önemli ve uzun dönem morbidite ve mortaliteden sorumlu komplikasyonu amiloidozdur. Amiloid fibrilleri ilk planda böbreklerde birikerek böbrek yetmezliğine sebep olmaktadır. Bu ciddi komplikasyon sebebiyle AAA'nin teşhis ve tedavisi önem arz etmektedir.⁸

Hastalık otozomal resesif kalıtılsa da önemli sayıda hastada MEFV geninde heterozigot mutasyon saptanmıştır.²¹ Hastalığın şiddetinde genetik ve çevresel faktörler etkilidir. Örneğin M694V mutasyonu ve serum amiloid-A(SAA) gen polimorfizmi olan hastalarda hastalığın daha şiddetli seyrettiği öne sürülmüştür.^{12,13}

2.1.2. Genetik

AAA'ya neden olan genin tanımı, bu otoenflamatuar hastalığın anlaşılmasında ve yönetilmesinde önemli bir aşama olmuştur. AAA, genetik geçişi tanımlanan ilk otoenflamatuar hastalıktır.^{1,2} İki bağımsız grup, 1997'de hastalığa neden olan geni MEFV gen olarak tanımlamıştır.^{22,23} Bu, sadece AAA için değil, aynı zamanda diğer otoenflamatuar bozukluklar için de genetik çağın başlangıcıdır.²⁴ 1997 yılında, kromozom 16 (16p 13.3)'da lokalize olan ve 10 ekzondan oluşan MEFV genindeki mutasyonlar AAA ile ilişkili olarak bulunmuştur (Şekil 1).⁹⁻¹¹ Bu gen özellikle miyeloid hücrelerde bulunan 781 aminoasitlik pyrin veya marenostrin olarak adlandırılan proteini

kodlamaktadır.⁹⁻¹¹ Bu gende şimdiye kadar ise 310’u aşkın MEFV varyantı rapor edilmiştir. Ancak tüm varyantlar hastalık fenotipi göstermemektedir. Bunlar “belirsiz önemdeki varyantlar” olarak adlandırılmaktadırlar. AAA ile ilişkili mutasyonların çoğu ekzon 10 ve ekzon 2 üzerinde taşınmaktadır. Mutant pyrin kontrolsüz interlekin-1(IL-1) sekresyonunu uyararak artmış enflamatuvar yanıtı yol açar.²⁵



Şekil 1. MEFV genindeki AAA ile ilişkili mutasyonların şematik bir temsili. AAA hastalarında en sık bulunan MEFV mutasyonları, C terminali PRYSPRY alanını kodlayan ekzon 10’da bulunur. Ekzonlar 2, 3 ve 5 önemli sayıda nadir mutasyon içerir.^{26,27}

Her ne kadar AAA otozomal resesif bir hastalık olarak değerlendirilse de hastaların önemli bir kısmının MEFV geninde tek mutasyon görülmüştür.^{28,29} Tek bir mutasyona bağlı AAA, M694V gibi ciddi mutasyonlar ile sınırlı değildir. Aynı zamanda V726A ve P369S gibi hafif mutasyonların varlığında da meydana gelir. AAA olan birçok heterozigot hastada hastalık fenotipinin ne şekilde ortaya çıktığı net olarak bilinmemektedir. Bu konuda diğer modifiye edici genler ve çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır.¹⁴

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda da AAA’nin otozomal dominant kalıtımı araştırılmaktadır. Farklı popülasyonlardaki AAA hastalarında (İspanyollar, Türkler, İngilizler, Hintliler, Flemekler, Japonlar) MEFV genindeki bazı heterozigot mutasyonların (H478Y, T577S, T577A, T577N, M694del, M694I, E148Q, L110P) AAA’ne yol açtığı rapor edilmiştir.^{11,30,31} Bu otozomal dominant geçişli AAA

hastalarında ataklar esnasında ürtikeryal raş ve konjonktivit gibi farklı semptomlar da gözlenmiştir.³¹

Booty ve arkadaşları AAA hastalarında MEFV gen sekanslarını taramışlar ve klinik semptomların varlığında, AAA teşhisi için tüm gen sekanslarını taramaya gerek olmadığının, en yaygın mutasyonları taramanın yeterli olduğunu göstermişlerdir.³² 2012 yılında bir grup klinik ve moleküler uzman tarafından toplam 14 MEFV varyantının test edilmesi konusunda uzlaşı oluşturmuştur.³³ Bunlardan dokuzu açıkça patojenik varyantlar (M694V, M694I, M680I, V726A, R761H, A744S, I692del, E167D, T267I) ve beş varyant da önemi bilinmeyen varyantlar (E148Q, K695R, P369S, F479L, I591T) olarak bildirilmiştir.³³

Doğu Akdeniz toplumları MEFV geninde benzer mutasyonlar göstermektedirler. M694V bu bölgede en yaygın görülen mutasyondur. M680I, V726A ve M694I da bu bölgedeki diğer yaygın mutasyonlardır.^{28,34-37} AAA'nin yaygın olmadığı toplumlarda ise sıklıkla başka mutasyonlar görülmektedir. Örneğin; Japonlarda en yaygın varyant E148Q'dir. M694I ve L110P diğer yaygın mutasyonlardır.³⁸ Hastalığın şiddetinde genetik ve çevresel faktörler etkilidir. Örneğin, M694V mutasyonu ve serum amiloid-A (SAA) gen polimorfizmi olan hastalarda, hastalığın daha şiddetli seyrettiği bildirilmiştir.³⁹

Ayaz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada sistemik başlangıçlı Juvenil idiopatik artrit (JIA) hastalarının sağlıklı popülasyona göre anlamlı derecede daha yüksek MEFV mutasyonu sıklığı taşıdığı gösterilmiştir.⁴⁰ MEFV geninin, bir diğer periyodik ateş sendromu olan PFAPA'da da tamamlayıcı olabileceği bildirilmektedir. Böylelikle, özellikle enflamasyonun yetersiz kontrolü söz konusu ise MEFV genindeki mutasyonlar diğer romatolojik ve enflamatuvar durumlara predispozisyon sağlayabilir.⁴¹ Benzer şekilde, çeşitli yayınlarda da AAA ile poliarteritis nodozanın ve çeşitli vaskülitlerin özellikle IgA vaskülitlerin (HSP) sık birlikteliği gösterilmiştir.⁴²

Yakın zamanda SHARE (Single Hub and Access Point for Pediatric Rheumatology in Europe) grubu tarafından AAA'nın genetik teşhisi için kanıta dayalı öneriler geliştirilmiştir (Tablo 1).³⁹ Bu  nerilerde M694V için homozigot hastalar hastalığın erken başlangı ı ve şiddetli fenotip açısından riskli olarak görülmektedir. E148Q ise MEFV geninde en sık rastlanılan sekans değişikliği olarak tanımlanmıştır. Bu mutasyon MEFV geninde ekzon 2 de kodon 148'de glutamin yerine glutamik asit

gelmesiyle sonuçlanır. Genel olarak toplumda da sık görülen bu mutasyonun hastalıkla ilişkili patojenitesi halen belirsizdir.⁴¹ SHARE tavsiyelerine göre de E148Q mutasyonu, AAA teşhisini desteklemeyen tek MEFV varyantıdır.³⁹

Tablo 1. AAA genetik teşhisi için öneriler³⁹

		Kanıt Gücü
1	AAA klinik bir tanıdır, genetik ile desteklenebilir ama dışlanamaz.	B
2	M694V homozigot hastaların çok yüksek olasılıkla şiddetli bir fenotip geliştirme riski taşıdıkları değerlendirilmelidir.	B
3	Özellikle M694V mutasyonu veya ekzon 10 üzerinde 680-694 arasında 2 genel mutant allele taşıyan (homozigot veya kompozit heterozigot) AAA hastaları daha şiddetli hastalık riski altında değerlendirilmelidirler.	B
4	E148Q varyasyonu yaygın olup, patojenik önemi bilinmiyor ve AAA teşhisini desteklemeyen tek MEFV varyantıdır.	B
5	M694V mutasyonu homozigot hastalar erken başlangıçlı hastalık riski altındadırlar.	C
6	Semptom göstermeyen M694V homozigot bireyler, değerlendirilmeli ve tedaviye başlama açısından yakın takip edilmelidirler.	A
7	Semptom göstermeyen ve AAA için iki patojenik mutasyon taşıyan bireyler eğer AA amiloidoz için risk faktörlerini taşıyorlarsa (ülke, aile öyküsü, tekrarlayan yükselmiş enflamatuvar belirtiler, özellikle serum amiloid A protein), yakın takip başlatılmalı ve tedavi değerlendirilmeli.	B
8	Genetik testin endikasyonu, yorumu ve teşhis için bir otoenflamatuvar hastalık uzmanı ile konsültasyon faydalı olabilir.	C

2.1.3. Patogenez

MEFV geni tarafından kodlanan pyrin'in ASC (inflamazom adaptör proteini) ile etkileştiği düşünülmektedir. İnflamazomun tekrarlayan oluşumunun kaspaz-1'i aktive ettiği ve bunun da IL-1 β aktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (Şekil 2).⁴³ MEFV geni üzerindeki hastalığa yol açan mutasyonların fonksiyon kaybettiren mi, fonksiyon kazandıran mutasyonlar mı oldukları ise hala tartışmalıdır.⁴⁴

Patojenik mikroorganizmaların patojen tanıyıcı reseptörler (PTR) tarafından tespiti, inflamazom oluşumunu tetikler. Son bilgiler pyrin'in de bir PTR olduğunu düşündürmektedir.⁴⁵ *Clostridium difficile*'nin TcdA ve TcdB adlı iki majör virulans faktörü Rho GTPaz'ı inhibe ederler.⁴⁵ TcdB kaspaz-1 aktivasyonu ve IL-1 β üretimine

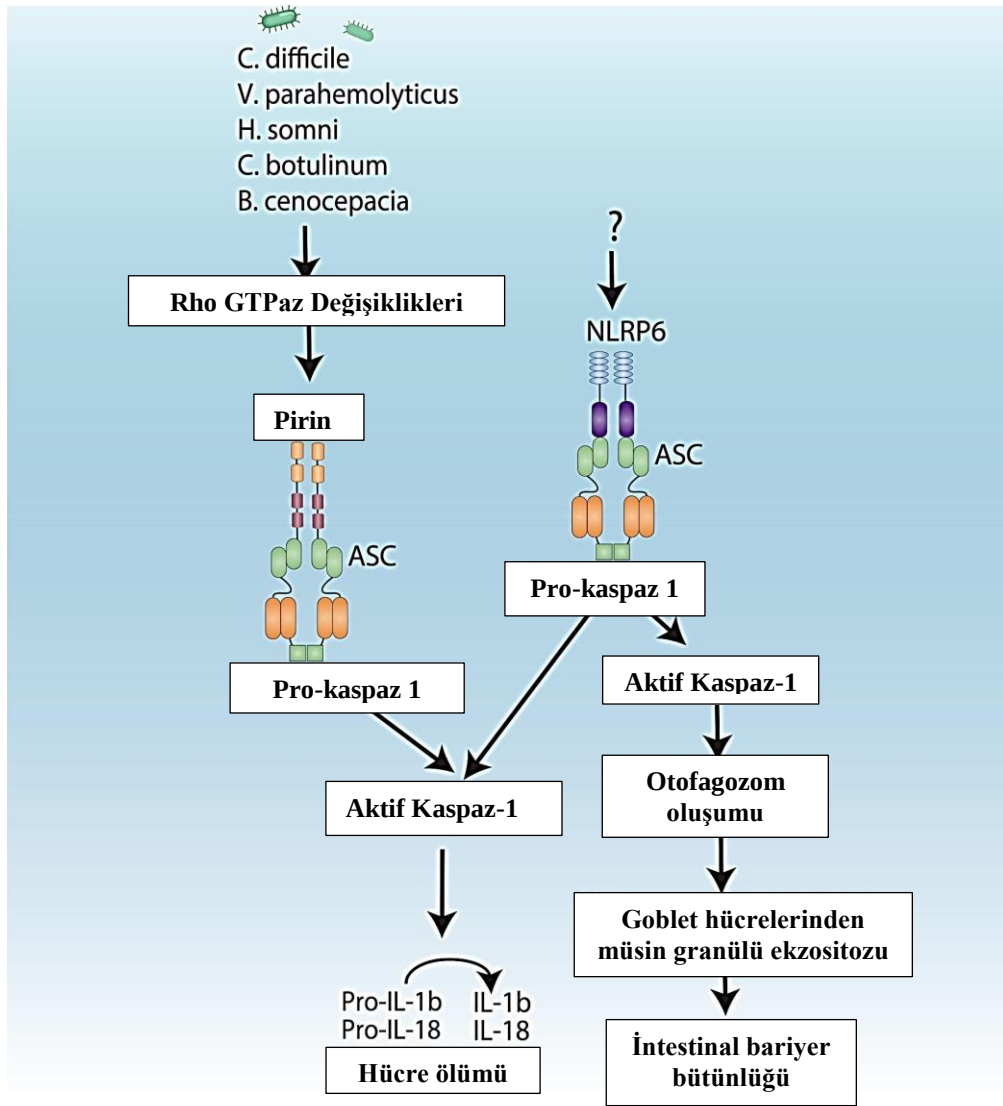
böylece inflamazom aktivasyonuna da yol açar.⁴⁵⁻⁴⁷ *Clostridium botulinum*'un C3 toksini ve *Burkholderia cenocepacia*'nın tip 6 sekresyon sistemi (T6SSS) GTPazı modifiye ederek RHO'yu inaktive ederler.⁴⁵ Bu bulgular, RHO'yu modifiye edebilen bakteriyel toksinlerin kaspaz-1 aktivasyonu ve IL-1 β üretimini tetikleyerek inflamazomu aktifleyebileceklerini göstermektedir (Şekil 2).⁴⁵

İnflamazomlar doğal immün sistemin parçasıdır. Ekzojen ve endojen faktörlere karşı immünolojik cevabın düzenlenmesinden sorumludurlar. İnflamazomlar hücre içi multiprotein kompleksleridir. İnflamazomlara dair 2 farklı reseptör grubu tanımlanmıştır; NOD benzeri reseptör ailesi (NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP12, NLRC4/IPAF) ve ALR-AIM2 benzeri reseptörler özellikle AIM-2.^{48,49} Prototip inflamazom NLRP3, 3 eleman içerir; bir moleküler patojen tanıma reseptörü (PTR), bir kaspaz güçlendirme bölgesi (ASC: bir adaptör proteindir), ve bir enzim kaspaz-1. Kaspaz-1, enflamatuar sitokinler olan IL-1 β ve IL-18 matürasyonuna yol açar. Bu inflamazom, tetikleyici uyarının PTR'ler tarafından tanınmasıyla aktive olur, ASC adaptör molekülüyle etkileşimi sonucu kaspaz-1 aktivasyonuna sebep olur. PTR'lerin tetiklenmesi, ekstrinsik patojen ilişkili moleküler kalıplar veya hasar ilişkili moleküler kalıplardır. Kaspaz-1 aktivasyonu, IL-1 β ve IL-18'in inaktif prekürsörlerinin aktif formlarına ayrışmasını stimüle eder (Şekil 2).⁵⁰

Otoenflamatuar hastalıkların bir kısmı inflamazomlardaki bozukluklarla ilişkilidir. Bu ilişki ilk önce kryopyrin ilişkili periyodik sendromda tanımlanmıştır (CAPS). Kriyoprini kodlayan NLRP3 genindeki bir mutasyon inflamazomu etkilemektedir. Daha sonraları inflamazomlardaki defektlerle ilişkilendirilen AAA'nin de dahil olduğu pek çok monogenik otoenflamatuar hastalık inflamazomopatiler olarak tanımlanmıştır.⁵⁰ İnflamazomopatiler ile ilişkili monogenik otoenflamatuar hastalıklar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İnflamazomopatiler ile ilişkili monogenik otoenflamatuar hastalıklar⁵⁰

HASTALIK	GEN	KROMOZOM	PROTEİN
AAA	MEFV	16p13.3	Pyrin
HIDS ve Periyodik Ateş	MVK	12q24	MVK
CAPS	NLRP3	1q44	Criopyrin
PAPA	PSTPIP1	15q24-25.1	PSTPIP1
NLRC4 Mut.İlişkili otoenflamasyon, enterokolit, MAS send.	NLRC4	2p22.3	NLRC4
NLRP12 Mut. ilişkili Periyodik Ateş Send.ları	NLRP12	19q13.42	NLRP12
Artrit ve diskeratozla seyreden NLRP1 ilişkili otoenflamasyon	NLRP1	17p13.2	NLRP1



Şekil 2 Kaspaz-1 aktivasyonu ve etkileri (Klasik inflamasyonlardan farklı olarak pirin, Rho GTPazlardaki modifikasyonlar gibi hücresel işleyişteki patojen kaynaklı değişimleri algılar. NLRP6'nın aktivatörü henüz tanımlanmamıştır. NLRP6 inflamazomu, kaspaz-1 aktivasyonunu ve sonraki IL-1 sitokin üretimini indüklemenin yanı sıra, bağırsak homeostazını sağlar. NLRP6, goblet hücrelerinden mûsin granül ekzositozu için ve bağırsak bariyeri bütünlüğünün sürdürülmesi için gerekli olan otofagozom oluşumunu düzenler.)⁴³

AAA ataklarında nötrofili ve inflamasyon bölgesine nötrofil akışı olduğu bilinmektedir.⁵¹ Gohar ve arkadaşları M694V pozitif hastaların uyarılmamış nötrofillerinin invitro şartlarda sağlıklı kontrollere göre spontan olarak daha fazla S100A12, IL-18 ve kaspaz-1 sekrete ettiklerini gösterdiler.⁵² Başka bir çalışmada ise AAA atağının aktive IL-1 β yı da içeren nötrofil ekstrasellüler tuzaklarının (NET) sekresyonuyla açıklanabileceği gösterildi.⁵¹ Apostolidou ve arkadaşlarının bu çalışmasında kolşisinin PMNL (Polimorfonükleer lökositler) tarafından IL-1 β salgılanmasını direkt olarak kısıtladığı gösterilmiştir.⁵¹ Bu nötrofil ekstrasellüler

tuzakları, AAA atağının ilk saatlerinde gözlenirler ve atak yatışınca kaybolurlar. Nötrofil ekstrasellüler tuzakları kendi üretimlerini negatif geri bildirim ile sınırlandırmaktadır. Bu durum AAA ataklarının, kendini nasıl sınırladığını açıklayabilir. Aynı çalışmada remisyonadaki AAA hastalarındaki nötrofillerin, nötrofil ekstrasellüler tuzakları sekresyonu için uyarılmaya karşı dirençli oldukları da bildirilmiştir. Bu hücrelerdeki azalmış bazal otofaji seviyelerinin bundan sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Nötrofil ekstrasellüler tuzaklarının formasyonu için otofaji indüksiyonuna ihtiyaç olmaktadır. Böylelikle nötrofillerdeki düşük bazal otofaji seviyelerinin proinflatuar nötrofil ekstrasellüler tuzaklarının sekresyonunu baskılayarak, ataklardan koruyabileceği bildirilmiştir.²⁵

2.1.4. Klinik Bulgular

AAA, tekrarlayan ateşli steril peritonit, plevrit ve artrit atakları ile karakterizedir. Daha az sıklıkla etkilenen diğer alanlar deri, perikard ve tunika vaginalis'tir. Çoğu hasta (% 90), ilk ataklarını 20 yaşından önce geçirir.⁵³ AAA atakları aniden ortaya çıkar, kısa bir süre (6–96 saat) devam eder ve kendiliğinden geçer. Yüksek dereceli ateş ve şiddetli ağrı, ataklar sırasında hastayı yatağa bağlı bırakır. Akut ataklar arasında hastalar genellikle asemptomatiktir.⁵⁴

AAA öyküsü olan ve AAA'nin klinik özellikleri olmadan AA tipi amiloidoz gelişen bir hastaya klasik olarak fenotip II denir. Türk AAA Çalışma Grubu bir predispozan hastalığı olmayan, iki MEFV mutasyonuna sahip olan ve/veya amiloidoz tanısı sonrası klasik AAA atakları gelişen AA amiloidozlu hastaların fenotip II olarak da sınıflandırılabilceğini öne sürmüştür.³⁴ Fenotip II prevalansı oldukça düşüktür.^{34,55-57}

Prodromal faz, AAA hastalarının yaklaşık yarısında görülür, ortalama 20 saat sürer ve yaklaşmakta olan semptomların yerinde rahatsızlık hissi ya da fiziksel, duygusal ve nöropsikolojik belirtiler (huzursuzluk, anksiyete, sinirlilik, iştah ve tat değişiklikleri) ile kendini gösterir.⁵⁸

Tablo 3. AAA klinik bulgu, eşlik eden hastalık ve komplikasyonları^{59,60}

Klinik bulgu	Açıklama
Prodrom	% 50 oranında görülür
Ateş	Akut atak esnasında vakaların neredeyse % 100 ünde görülür.
Peritonit	Vakaların % 95 inden fazlasında görülür.
Plevrit	% 30-40 vakada gözlenir.
Perikardit	Diğer serozitlere kıyasla daha nadir görülür. Vakaların sadece % 0,7 sinde görülür.
Artrit	En yaygın olarak asimetrik yıkıcı olmayan artrit şeklinde vakaların % 75 inde gözlenir. FMF hastalarının %10 unda da başlangıç semptomudur.
Erizipel benzeri cilt lezyonu	AAA hastalarının % 12-40 kadarında görülür
Egzersizle myalji	Epizodik karakter göstermez ve kolşisin ile kontrol altına alınmaz. ⁶¹
Uzamış febril myalji	Hastayı devre dışı bırakan nadir bir komplikasyondur.
Başağrısı	AAA atağına eşlik edebilir ve zaman zaman reküren aseptik menenjit formunda şiddetli de olabilir ancak AAA ile birlikteliği hala belirsizdir. ⁶²
Vaskülitler	Esas olarak HSP ve PAN gözlenir.
Behçet sendromu	AAA hastalarında yaygındır ancak HSP ve PAN dan daha nadir gözlenir. ⁶³
Ateroskleroz	Enflamatuvar hastalıklarda gözlenen endotel hasarı ve intimal kalınlaşma sebebiyle aterosklerotik kalp hastalığına yol açar. ⁶⁴
Amiloidoz dışı renal bulgular	Hematüri, proteinüri, reküren akut piyelonefrit ve glomerülonefrit. ⁶⁵
AA amiloidozis ve renal tutulum	Amiloidoz AAA'nin asıl komplikasyonu olsa da, Türkiye kaynaklı geniş çok merkezli bir çalışmada AAA hastalarının % 8,6'sında saptanmıştır. ⁶⁶
Diğerleri (Splenomegali, retinopati, HLA B27 neg sacroileit, kronik dejeneratif artrit) ⁵⁶	Çok nadir görülürler. Kr dejeneratif artrit ayak bilekleri ve dizlerde görülür. Bir aydan uzun sürer ve kalıcı hasar bırakır. ⁵⁹

2.1.4.1. Akut Atakta Gözlenen Bulgular

2.1.4.1.1. Ateş

Klasik klinik özellikler tekrarlayan ve kendini sınırlayan ateş ve serozit ataklarıdır.^{67,68} Hafif dereceli ateş görülebileceği gibi bazı ataklarda ateş 38-40°C'ye çıkabilir. Hastaların % 20-30'unda sıcaklıktaki artış, titreme ile gerçekleşir. Ateş genellikle 12 saat ile 3 gün arasında sürer. Nadiren AAA'nın tek bulgusu olabilir. Kolşisin alan hastalarda, ataklar ateş bileşeninden yoksun olabilir.⁶⁷

2.1.4.1.2. Karın Ağrısı

En sık görülen serozit şekli, karın ağrısı olarak ortaya çıkan akut peritonittir. Abdominal ataklar hastaların yaklaşık %95'inde görülen ataklardır.^{34,53,69} Karın ağrısı genellikle hastaları yatmaya mecbur bırakacak şiddettedir. Klinik ve patolojik bulgular, jeneralize akut peritonit tanısı ile uyumludur. Atak sırasında kabızlık tipiktir, ancak

ishal de hastaların %10-20'sinde görülür. Direk karın grafisinde ileus düşündüren çoklu gaz-sıvı seviyeleri görülebilir.⁶⁹ Lokalize kalabilir ve apandisit veya kolesistit taklit edebilir. Daha az sıklıkla, posterior peritonit, renal kolik veya akut pelvik inflamatuvar hastalığı taklit edebilir. Neyse ki, AAA'nın tekrarlayan peritonitine adezyon oluşumu nadiren eşlik eder.⁶⁷ Ataklar 1-3 gün sürer ve kendiliğinden düzelir. Akut karına benzeyen klinik tablo laparotomi ve apendektomiye neden olabilir. Elektif apendektomi yanlış tanı ve gereksiz acil operasyon riskini önleyebilmesine rağmen, pek çok klinisyen tarafından önerilmemektedir.⁶⁹ Elektif apendektomi, akut peritonitin diğer nedenlerini dışlamamaktadır ve kendisi de peritoneal adezyonlara ve fibrotik bantlara neden olabilir.^{53,70}

2.1.4.1.3.Artrit

Artrit/artralji hastaların yaklaşık % 50'sinde mevcuttur. Artrit sıklıkla mono-artiküler veya oligoartikülerdir ve asimetriktir. Ayak bileği ve diz en yaygın tutulan eklemlerdir.⁶⁷ AAA artritinin üç karakteristik özelliği (1) ilk 24 saatte çok yüksek ateş, (2) bacağın büyük eklemlerinden birinin tutulumu, ve (3) 24-48 saatte zirve yaptıktan sonra belirti ve semptomların tedricen çözülmesidir. Genellikle steril bir sinoviyal efüzyon mevcuttur. Ataklar genellikle kalça ya da dizdedir, ancak ayak bileği, omuz, temporomandibular eklem ya da sternoklaviküler eklemde de ortaya çıkabilir. Tekrarlayan monoartrit, AAA'nın tek bulgusu olabilir.⁷¹ Kırmızı, şişmiş, ılık ve hassas tek eklemde görülen tekrarlayan akut ataklarda, başlangıç ani ve ateş 39-40°C arasındadır. Akut monoartrit genellikle kendiliğinden ortaya çıkar, fakat bazen travma veya uzamış bacak eforu ile tetiklenebilir. Genellikle bir hafta içinde çözülür.^{72,73} Eş zamanlı karın ağrısı mevcut olabilir. AAA'nın artriti genellikle deformite olmadan iyileşir.⁶⁷ Ancak nadiren eklemde ciddi hasara yol açan ve kalıcı deformite eklem replasmanı gerektiren destrüktif artrit de görülebilir.⁷¹

2.1.4.1.4. Plevrit

Plörezi nedeniyle göğüs ağrısı, AAA'nın bir başka özelliğidir. Bir atak sırasında plevral ağrı tek başına olabilir veya abdominal ve eklem bulgularına eşlik edebilir.⁵⁴ Hastaların % 5'inde AAA'nın ilk bulgusu olabilir. Perikardit ile aynı anda da görülebilir. Etkilenen tarafta, solunum sesleri azalır ve nefes alıp vermekle ağrı

hissedilir. Radyografide, kostofrenik açıda küçük bir efüzyon görülebilir. Ataklar genelde 48 saat içinde çözülür ancak bazen 7 güne kadar da uzayabilir.⁶⁷

2.1.4.1.5. Perikardit

AAA'da bazen tekrarlayan özellikler ile birlikte perikardiyal efüzyon da ortaya çıkabilir. Perikardit, AAA hastalarının % 2,4'ünde gelişir. Tekrarlayan perikarditin sadece AAA'nin bulgusu olarak çok nadir olduğu bildirilmiştir.³⁴

Retrosternal ağrı ile karakterizedir. Elektrokardiyogram yüksek ST segmenti göstermektedir. Radyografiler kardiyak silüetin geçici genişlemesini gösterebilir ve ekokardiyografide perikardiyal efüzyon görülebilir.⁷⁴ Hastalığın geç bir aşamasında görünme eğilimindedir. Perikarditin yetersiz tanısı, bu bozukluğun göreceli olarak yaygın olan plevritten ayırt edilmemesinden kaynaklanabilir. Akut perikardiyal AAA ataklarını takiben restriktif perikardit hakkında birkaç vaka bildirilmiştir.⁶⁷

2.1.4.1.6. Eritem

AAA'nın en karakteristik bulgularından biri, özellikle ayak bileği veya ayağın dorsumu üzerinde alt ekstremitelerde yer alan erizipel benzeri eritemdir. Lezyona sıklıkla ateş ve bazen artrit eşlik eder.⁵³ AAA hastalarının % 7-40'ında bildirilmiştir.^{53,75} Semptomlar hızla yoğunlaşır ve eritem 2-3 gün içinde kendiliğinden kaybolur.⁶⁷

2.1.4.1.7. Splenomegali

Splenomegali, AAA hastalarında değişken frekanslarda tanımlanmıştır.²⁴ Bunların çoğunda rektal biyopsi amiloidoz için negatif olup, dalak büyümesinin amiloid birikiminin bir sonucu olmadığını düşündürmektedir.⁶⁷

2.1.4.1.8. Miyalji

Ataklar sırasında şiddetli miyalji genellikle kol ve bacaklarda görülür ve artrit ile ilişkili olabilir. Sadece çok nadiren AAA'nın tek bulgusudur. Miyalji atakları 3 haftadan fazla sürebilir.^{70,76}

2.1.4.1.9. Orşit

Nadiren rastlanılan orşit de bazen bir atağın özelliği olabilir.⁵⁴ Peritonun bir uzantısı olan tunica vaginalisin inflamasyonu akut skrotuma yol açabilir. Akut orşit kendini skrotal ödem ve ağrı ile gösterir.⁶⁷

2.1.4.2. Kronik Komplikasyonlar ve Hedef Organ Hasarı

2.1.4.2.1. Amiloidoz ve Böbrek Yetmezliği

Sekonder amiloidozda, böbrek en sık etkilenen organdır, diğer organların tutulumu çok daha nadirdir.⁷⁷ Asemptomatik proteinüri böbrek hastalığının en yaygın başlangıç bulgusudur. Bu yüzden sekonder amiloidoz riski ile ilişkili hastalarda idrar tahlili rutin olarak görülmelidir. Ancak renal amiloidozlu hastaların %10-30 unun sadece ılımlı proteinüri ve normal renal fonksiyonla seyredebileceği de unutulmamalıdır. Amiloid fibrillerinin primer olarak kan damarları veya tübüllerde depolanması sebebiyle bazı hastalar proteinüri görülmeden veya çok hafif proteinüri ve renal yetmezlik ile görülebilirler.⁷⁷

Sistemik amiloidozda, gastrointestinal sistem en sık tutulan bölgelerden biridir. Rektum sıklıkla etkilendiğinden ve kolaylıkla ulaşılabilindiğinden, pek çok vakada rektal biyopsi başlangıç teşhis aracıdır. Gastrointestinal bulgular genellikle nonspesifiktir. Dispepsi, karın ağrısı, bulantı, ishal, gastrointestinal kanama, malabsorbsiyon, konstipasyon ve obstrüksiyon şeklinde bulgu verebilir.^{78,79} Akut gastrointestinal sistem semptomları AAA atağını taklit edebilir. Amiloid fibrillerinin karaciğer ve dalakta depolanması, hepatomegali ve splenomegaliye yolaçabilir.^{80,81} Serum karaciğer enzim seviyeleri yükselebilir. Splenomegali hipersplenizme ve nadiren splenik rüptüre sebep olabilir.^{81,82}

AAA'nde amiloidoz gelişimini etkileyen faktörler; AAA hastalarında amiloidoz sıklığı her zaman atak sıklığı ile ilişkili değildir. Persistan olarak yüksek seyreden SAA seviyeleri ile giden subklinik enflamasyonun bu hastalarda amiloid fibrillerinin depolanmasında hayati önem taşıdığı değerlendirilmektedir. Kolşisin kullanımı amiloidoz gelişimini önler.⁸³ AAA hastalarında amiloidoz gelişimiyle ilgili pek çok çalışmada cinsiyet, genetik ve çevresel faktörler üzerinde durulmuştur:

- Erkek cinsiyet ve ailede sekonder amiloidoz varlığı hastada amiloidoz gelişimi ile belirgin olarak ilişkilidir.⁸⁴

- Pek çok çalışma Ekzon 10'da 680-694 arası mutasyonların, özellikle M694V homozigotluğunun amiloidoz ile ilişkisini vurgulamıştır. Ancak, farklı mutasyonlu hastalarda da amiloidoz gelişebilir.^{34,85}

- Modifiye edici genlerdeki bir kısım polimorfizmin amiloidoz gelişimini artıran faktörler olduğu ileri sürülmüştür. Örneğin SAA1.1 α/α genotipi, diğer SAA genotipleriyle karşılaştırıldığında yedi kez daha fazla amiloidoz gelişim riski ile ilişkilidir. Bu karşılaştırma Türk, Ermeni ve Yahudi populasyonlarda doğrulanmıştır.^{86,87}

- Çevresel faktörlerin hastalığın gidişini etkilediği düşünülmektedir. Toitou ve arkadaşları yaptıkları çok merkezli multi-etnik çalışmada,⁸⁸ AAA hastalarında hastanın yaşadığı ülkenin renal amiloidoz gelişiminde anahtar risk faktörü olduğunu öne sürmüşler ve profilaktik kolşisin endikasyonu konulmasında, MEFV genotipi ile birlikte hastanın yaşadığı ülkenin de değerlendirilmesini önermişlerdir.⁷⁷

2.1.4.2.2. Tekrarlayan Uzamış Febril Myalji ve Sık Steroid İhtiyacı

AAA'nin nadir komplikasyonlarından biri de uzamış febril myalji sendromudur. Uzamış febril miyalji sendromu (UFMS), ilk kez 1994'te Langevitz ve ark. Tarafından AAA olan hastalarda tanımlanmıştır.⁷⁶ En az 5 gün süren hareketsiz bırakan bir myalji mevcuttur. Şiddetli paralize edici miyalji ve yüksek ateşe kimi zaman karın ağrısı, diyare, artrit/artralji ve geçici vaskülitik purpura da eşlik edebilir.^{74,89} Kreatin kinaz seviyeleri genelde normalken artmış enflamasyon markerları ve ateşle seyreder. Yüksek eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), hiperglobulinemi ve elektromiyografide (EMG) ince nonspesifik enflamatuvar miyopatik değişiklikler diğer özellikleridir.^{74,89} En az bir M694V mutasyonu görülür.⁹⁰ Semptomları baskılamak için steroid tedavisi gerekebilir.⁹⁰ Kortikosteroidlerle tedavi edilen hastalar hariç epizodlar 4 ila 6 hafta arasında sürerler. UFMS, kolşisin profilaksisi altında bile tekrarlayabilir. UFMS'nin AAA tanısından önce de görülebileceği bildirilmiştir.⁸⁹ Uzamış febril myalji sendromlu AAA hastalarında anakinra kullanımı ile de başarı elde edilmiştir.⁹¹

2.1.4.2.3. Persistan Artrit

Hastaların yaklaşık % 5'inde uzamış artrit görülür. Genellikle diz veya kalça eklemi tutulur. Ayak bileği ve nadiren temporomandibular eklem gibi diğer eklem

tutulmaları bildirilmiştir. Semptomlar bir aydan fazla sürmektedir. Klasik klinik tablo kronik monoartritir. Kronik oligoartrit nadiren görülebilir. Çoğu durumda artrit tam olarak iyileşir, ancak bazı uzun süreli vakalarda özellikle kalçada ve nadiren diğer eklemlerde sakatlık ve eklem replasmanına yol açan yıkıcı artritler görülebilir.^{72,73,92}

Kronik artritli bazı AAA hastaları spondiloartrit tanı kriterlerini karşılamaktadır. Minimal radyografik spinal tutulumla birlikte genellikle tek taraflı veya bilateral sakroilit, entezit, inflamatuvar sırt / boyun ağrısı görülür.⁶⁹ Ancak spondiloartritin aksine hemen hemen her zaman HLA-B27 negatiftir.⁹³

2.1.4.3. Eşlik Edebilen Diğer Hastalıklar

Bu hastalarda vaskülit de sık görülür. Bir dizi raporda Henoch-Schonlein purpurası (HSP), poliarteritis nodoza (PAN) ve Behçet hastalığının bu hastalarda daha sık olduğu bildirilmiştir.^{2,42,68} Ancak, Türkiye AAA Çalışma Grubu tarafından yapılan son çalışmada, AAA hastaları arasında Behçet hastalığı (5/1000) sıklığı, Türkiye'deki genel prevalansından farklı bulunmamıştır, ancak HSP ve PAN, genel popülasyonda beklenenden daha sık görülmüştür.³⁴

2.1.4.3.1. Henoch Schonlein Purpurası

HSP, AAA'lı çocuklarda görülen en yaygın vaskülitir. Tipik dağılımlı palpabl purpura, gastrointestinal kanama ve glomerülonefrit olan AAA hastalarında HSP düşünülmelidir. Tanı, IgA immün birikimleri ile lökositoklastik vaskülit gösteren cilt biyopsisi ile doğrulanır.⁴²

2.1.4.3.2. Poliarteritis Nodosa

Aralıksız hastalık, santral veya periferik sinir sistemi bulguları ve perirenal hematom, AAA'lı bir hastada PAN'ı hatırlatan ipuçlarıdır. PAN tanısı, nekrotizan vaskülit gösteren cilt, semptomatik sinir veya kastan alınan bir biyopsi ile doğrulanır. Çoğunlukla böbreklere, karaciğere veya gastrointestinal sisteme giden damarları etkileyen anevrizmaların anjiyografi ile belirlenmesi de tanıya yardımcı olabilir. PAN gelişen AAA hastalarının daha genç yaşta olma eğiliminde olduğu ve daha fazla subkapsüler hematom saptandığı bildirilmiştir.⁴² AAA ile ilişkili PAN, immünsüpresif tedaviye rağmen ağır bir seyir izleyebilir.⁹⁴

2.1.5. Laboratuvar İncelemeleri

AAA geçirdiğinden şüphelenilen her çocukta, akut faz reaktanları aranmalı ve tercihen bir atak sırasında tekrarlanmalıdır. Akut faz reaktanları, atak sırasında neredeyse her zaman yükselir. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), CRP ve fibrinojen değerlendirilmelidir. Hastalar ataklar arasında da artmış akut faz reaktanları, özellikle CRP düzeylerine sahip olmaya devam edebilmektedir.⁹⁵

Bir diğer önemli serum belirteci SAA seviyesidir. Kolşisin dozunun yeterliliğini izlemek için yükselmiş SAA düzeyleri kullanılabilir.²⁴ MEFV geninde homozigot mutasyonları olan asemptomatik hastalarda tedaviye karar vermek için bir belirteç olabilir. AAA tanısı alan tüm hastaların proteinüri varlığı için bir idrar tahlili olmalı ve her 4-6 ayda bir sürekli izlenmelidir. Kolşisin nadiren de olsa lökopeni ile ilişkili olduğu için yılda iki kez tam kan sayımı zorunludur.²⁴

2.1.6. Ayırıcı Tanı

AAA dışında sık görülen herediter periyodik ateş sendromları, tümör nekroz faktör reseptörü ilişkili periyodik ateş sendromu (TRAPS), hiperimmünoglobulin D sendromu (HIDS), Muckle-Wells sendromu (MWS), ailesel soğuk otoenflamatuar sendrom (FCAS), neonatal başlangıçlı multisistem enflamatuar hastalık (NOMID; aynı zamanda kronik infantil nörolojik kutanöz artiküler sendrom [CINCA]) ve periyodik ateş-adenopati-farenjit-aftöz stomatit (PFAPA) sendromu içerir (Tablo 4).⁹⁶

AAA, özellikle çocuklarda sadece artrit atakları ile seyredebilir. Beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarının yaygın olduğu Doğu Akdeniz'de bu tür hastalar, akut romatizmal ateş tanısıyla hatalı olarak teşhis edilebilmektedir.³⁴

2.1.6.1. TRAPS

TRAPS, tümör nekrozis faktör reseptör süper aile tip 1A (TNFRS1A) mutasyonlarının neden olduğu otozomal dominant bir hastalıktır.^{97,98} TRAPS, serozal, sinovyal, kutanöz, kas, abdomen ve oküler bulgular ile seyreden uzamış ateş ve inflamasyon atakları ile karakterizedir.⁹⁶ TRAPS başlangıçta sadece İrlandalı ailelerde tanımlanmış ve ailesel Hiberniyen ateşi olarak adlandırılmış olsa da, diğer birçok popülasyonda da TNFRS1A mutasyonları saptanmıştır.^{100,101}

Başlangıç yaşı, bebeklikten yetişkinliğe kadar değişkendir, ancak erken çocukluk döneminde olma eğilimindedir. TRAPS atakları AAA'dan daha uzun genellikle 1-4 hafta sürer ve her yıl en az 2-6 kez tekrar eder. Bu tekrarlayan enflamatuvar ataklar, kendiliğinden veya stres gibi küçük tetikleyicilerden sonra meydana gelir. TRAPS'ta kas tutulumu sık görülür.⁹⁹ Abdominal ağrı, miyalji ve gezici döküntüler, TRAPS'ın tipik özellikleridir. En sık görülen deri bulguları genellikle ekstremitelerde görülen gezici eritematöz bir döküntüdür. Ürtiker benzeri lezyonlar, plaklar ve yamalar da gözlenebilir. Abdominal ağrı şiddetli olabilir ve ataklar sırasında plörezi, skrotal ağrı, artrit, artralji ve perikardit de görülebilir. Periorbital ödem veya konjunktivit şeklinde gözlenen oküler enflamasyon başka bir ortak özelliktir.^{98,102} TRAPS'li hastalarda akut faz reaktanları seviyeleri ataklar arasında bile genellikle yüksek seyredir. Uzun süren ataklar, deri ve göz bulguları TRAPS'i AAA'dan ayıran özelliklerdir.^{99,102,103} Tanının doğrulanması için, TNFRSF1A geninin genetik testi önerilmektedir. Kortikosteroidler, özellikle başlangıçta verildiğinde, atakları hafifletebilir. Son zamanlarda, çözünür rekombinant insan TNF-reseptörü, umut verici sonuçlar ile TRAPS tedavisi için kullanılmıştır.⁵⁴

2.1.6.2. HIDS

HIDS, kolesterol ve izopren biyosentezinde rol oynayan bir enzim olan mevalonat kinazı kodlayan MVK genindeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif otoenflamatuvar bir hastalıktır.^{104,105} Isoprenler çeşitli hücresel işlevlerde rol oynarlar. Otoenflamatuvar hastalığa yol açan patojenik mekanizma hala anlaşılamamıştır. Kalan MVK aktivitesinin seviyesine bağlı olarak, klinik spektrum hastalığın hafif formlarından mevalonik asitürinin ölümcül formlarına kadar uzanmaktadır (Mevalonat kinaz eksikliği-Hiper IgD sendromu).^{105,106}

HIDS, abdominal ağrı, deri döküntüsü, ishal, kusma, aftöz ülserler, artralji ve lenfadenopati ile bulgu verebilen 3-6 gün süren yüksek ateş ile tekrarlayan inflamasyon atakları ile karakterize bir hastalıktır. Başlangıç, genellikle bebeklik döneminde olup çok erken yaşlardadır. Ataklar, aşılama, ameliyat, travma ve enfeksiyonlarla tetiklenebilir. Baş ağrısı, servikal lenfadenopati ve splenomegali HIDS'in ortak özellikleridir. Atak sırasında gözlenen deri bulguları ağrılı olabilen eritematöz

maküllerdir.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Bununla birlikte, diffüz makülopapüler, nodüler, ürtikeryal ve morbilliform döküntüler gibi birçok döküntü türü bildirilmiştir.¹⁰⁹

Çoğu hasta, ateş atakları sırasında ve bazal koşullar altında, artmış IgD düzeylerine (normal aralığın üst sınırının üç katından fazla) sahiptir, ancak hastaların % 20'sinde IgD düzeylerinde artış yoktur. HİDS'li çok küçük bebeklerde IgD seviyeleri normaldir. Ayrıca, IgD düzeyi hastalığın şiddeti ile ilişkili değildir.^{110,111} Buna karşılık, atak sırasında artmış mevalonik asitin idrarla atılımı bir tanı aracı olarak kullanılabilir.¹¹²

HİDS'li hastaların çoğu batı Avrupa ülkelerindendir. Karakteristik klinik tablo, genellikle yüksek IgD düzeyleri ve atak sırasında idrarda artmış Mevalonik asit düzeyleri ile tanısı konulur. Peritonit yokluğu, servikal lenf nodu tutulumu, simetrik oligo-artrit ve ciltte jeneralize döküntüler, HİDS'in AAA'dan ayırdedici özellikleridir.⁵⁴

2.1.6.3. CAPS

CAPS terimi üç hastalığı kapsamaktadır: ailevi soğuk otoinflamatuvar sendromu (FCAS), Muckle-Wells sendromu (MWS) ve neonatal başlangıçlı multisistem inflamatuvar hastalık (NOMID; ayrıca kronik infantil nörolojik kutanöz artiküler [CINCA] sendrom olarak da bilinir.).^{97,113,114}

Hepsi NLRP3 (Eski adı ile CIAS1; soğuk kaynaklı otoenflamatuar sendrom) geninin mutasyonları ile ilişkili olduğu için bir grupta yer almaktadır.⁵⁴ CAPS hastalarında görülen yaygın semptomlar tekrarlayan ateş, ürtiker, konjonktivit, kas iskelet sistemi semptomları ve yüksek akut faz reaktanları seviyeleridir.¹¹²

2.1.6.3.1. FCAS

Üç hastalık arasında, FCAS klinik spektrumu en hafif olanıdır. FCAS'ta, soğuk algınlığı sonrası birkaç saat içinde deri döküntüsü oluşur.¹¹⁵ Ateş, üşüme, ürtiker ve eklem semptomları ve bazen konjonktivitin eşlik ettiği, en az 2 gün süren soğuk kaynaklı ataklar ile karakterizedir.¹¹⁶

2.1.6.3.2. MWS

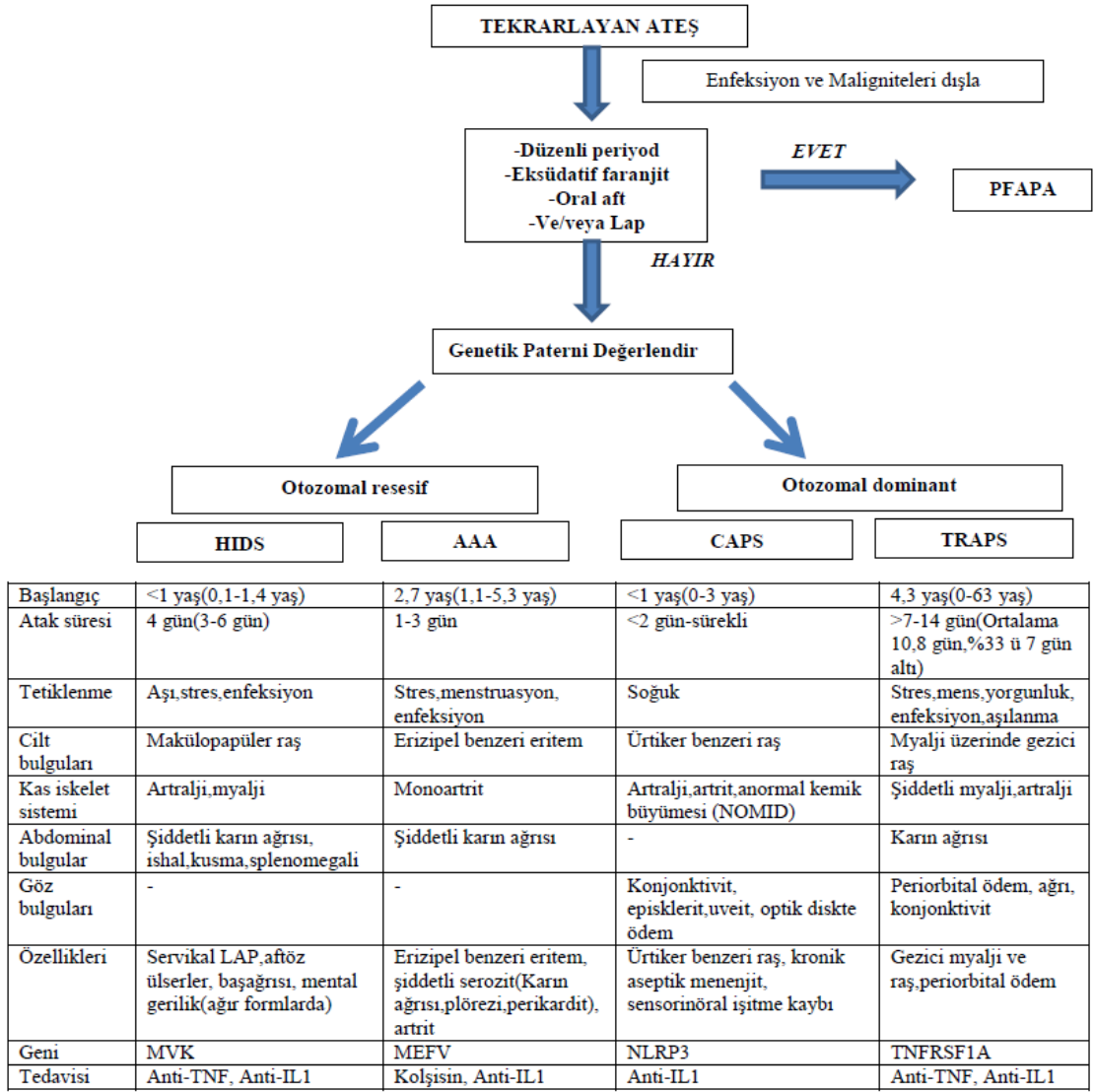
MWS'li hastalarda ateş, ürtiker ve artrit ile birlikte, işitme kaybı ve sıklıkla konjonktivit ve episklerit gibi göz bulguları görülür. MWS'de, ataklar 1-2 gün sürer.

Ayrıca MWS'li hastaların dörtte birinde amiloidoz gelişmektedir.⁹⁷ MWS'nin hastalık spektrumu değişebilir. Bir kısım hastada şiddetli ataklar ve daha erken işitme kaybı ile seyredebilir. Ancak ürtiker yokluğunda FMF ve MKD'den ayırt etmenin zor olduğu belirsiz semptomlarla da görülebilir.¹¹²

2.1.6.3.3. NOMID (CINCA)

NOMID (neonatal başlangıçlı multisistem enflamatuvar hastalık), neonatal başlangıçlı daha şiddetli bir hastalıktır. Yenidoğanın cilt döküntüleri, nörolojik bir hastalık ve artrit ile ilişkilidir. Patella ve büyüme kıkırdağının hipertrofisi karakteristiktir; körlük ve işitme kaybı oluşabilir. Ayırt edici fasiyal bir dismorfî neredeyse sabit bir özelliktir.¹¹⁷

Net ayrımlı ataklardan ziyade, FCAS ve MWS'den daha kronik ve kalıcı bir seyre sahiptir. Hastalar devam eden ateş, sürekli döküntü, optik disk ödemi, üveit, dizlerde anormal kemik aşırı büyümesi ve çeşitli merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları gösterir. MSS özellikleri değişebilir, ancak şiddetli baş ağrıları, kronik menenjit, hidrosefali, mental retardasyon, işitme kaybını içerir. Lenfadenopati görülebilir.^{114,115} Tedavi edilmeyen hastalarda mortalite yüksektir.^{5,116}



Şekil 3. Sık görülen periyodik ateş hastalıklarında ayırıcı tanı¹¹⁸

2.1.6.4.PFAPA

PFAPA (Periyodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit ve Adenit) sendromunda, ateşli ataklar 1-2 gün sürmektedir. Bu sendromun AAA'nden ayırt edilmesi rekürren farenjit, tonsillit ve oral ülserlere, kolşisin yanıtının yokluğuna ve kortikosteroidlere dramatik yanıtı dayanmaktadır.¹¹⁹

İlk olarak 1987'de Marshall ve ark. Tarafından tanımlanan PFAPA sendromu, çocuklarda en sık görülen periyodik ateş sendromlarından biridir.¹²⁰ PFAPA bilindiği kadarıyla monogenik bir hastalık değildir. Hastalık genellikle tekrarlayan ateşle birlikte 4 yaş civarında ortaya çıkar. Negatif boğaz kültürü olan eksüdatif tonsillit, servikal

lenfadenopati, oral aft ve daha az sıklıkla karın ağrısı, artralji, miyalji ve baş ağrısı görülür.¹²¹ Her dönem antibiyotik ve antipiretiklerden bağımsız olarak 4-6 gün sürer ve düzenli olarak her 3-5 haftada bir tekrar eder.¹²¹ PFAPA hastalarında bir erkek egemenliği (E/K: 1,8:1) ve yaklaşık % 30'unda aile öyküsü vardır.^{121,122} PFAPA tanısını doğrulamak için spesifik bir laboratuvar testi yoktur; bununla birlikte, ateş atakları arasında normalleşme ile birlikte, alevlenmeler sırasında lökositoz ve yüksek CRP değerleri yaygındır.^{121,122} PFAPA için şu ana kadar tanımlanmış hiçbir gen yoktur.¹²³ Diğer yandan, daha önce yapılan çalışmalar, AAA (MEFV) varyantlarının PFAPA'da modifiye edici bir role sahip olabileceğini göstermiştir.¹²⁴

Hastalık bulgularının genellikle 6 yaşından sonra kaybolması nedeniyle PFAPA kendi kendini sınırlayan bir hastalık olarak kabul edilir. Öte yandan, uzun süreli yüksek ateşli ataklar aile için ciddi bir endişe kaynağı olabilir. Kortikosteroidler, atak sırasında ateşin dramatik olarak durmasına neden olan en etkili cerrahi olmayan tedavidir ancak, gelecekteki atakları önlemez.^{121,125,126}

Ayrıca, atak sırasında kortikosteroid kullanan hastalarda ataklar arası süreler kısalabilir.¹²⁶ Kolşisin ile uzun süren ataksız dönemler sunan raporlar da vardır. Bununla birlikte tedavide en yüksek başarı tonsillektomi sonrasında kaydedilmiştir.^{126,127}

2.1.6.5. Tanı Kriterleri

SHARE grubu tarafından AAA'nin genetik teşhisi için kanıta dayalı önerilerde vurgulandığı üzere AAA klinik bir tanıdır.³⁹ Tanı için de Tel Hashomer, Livneh ve en son olarak da Türk Pediatrik AAA kriterleri ortaya konmuştur. Bizim çalışmamızda AAA tanısı ile araştırdığımız hastalar Tel Hashomer kriterlerine göre tanı almışlardır.

Tablo 4. Tel hashomer kriterleri (uzun versiyon)¹²⁸

Major kriterler
- ≥ 3 aynı şekilde tipik atak (rektal ateş $> 38^\circ$, 12 saat-3 gün arası devam eden)
- Peritonit
- Plevrit (unilateral) veya perikardit
- Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)
- Yalnız ateş
Minör kriterler
- Kısmi ataklar (Göğüs, karın veya eklemde, aşağıdakilerden 1 veya 2 sini içeren tipik ataklar) Ateş $< 38^\circ$ Atak süresi 6-12 saat veya 3-7 gün Abdominal atak esnasında peritonit bulgusu yok Lokale abdominal ağrı Kalça, diz ve ayak bileği dışında artrit
- Egzersizle bacak ağrısı
- Kolşisine olumlu yanıt
Destekleyici kriterler:
- AAA aile öyküsü
- Uygun etnik köken
- Hastalık başlangıç yaşı < 20
- Şiddetli, yatak istirahati gerektiren atak
- Spontan remisyon
- Semptomsuz interval
- Bir veya daha fazla anormal testte geçici enflamatuvar cevap (Beyaz küre sayısı, ESH, SAA, Fibrinojen)
- Epizodik proteinüri/hematüri
- Sonuçsuz laparotomi veya gereksiz appendektomi
- Anne-baba akrabalığı
Teşhis: ≥ 1 major veya, ≥ 2 minör kriter veya 1 minör + ≥ 5 destekleyici kriter veya 1 minör + ≥ 4 destekleyici kriter (İlk 5 kriterden 4 ü).

Tablo 5. Tel hashomer kriterleri (kısa versiyon)¹²⁸

Major Kriterler
- Peritonit, sinovit veya plevrit ile birliktelik gösteren tekrarlayan febril epizodlar.
- Devamlı kolşisin tedavisine olumlu yanıt.
- Predispozan hastalık olmadan AA tip amiloidoz.
Minör Kriterler
- Tekrarlayan febril epizodlar.
- Erizipel benzeri eritem.
- Birinci derece akrabalarında AAA öyküsü.
Teşhis; 2 major veya 1 major + 2 minör kriter

Tablo 6. Livneh kriterleri (basitleştirilmiş)¹²⁸

Major Kriterler
-Tekrarlayan tipik ataklar (Aynı tip en az üç atak); febril(Rektal derece $\geq 38^{\circ}\text{C}$), kısa süreli(12-72 saat).
-Jeneralize peritonit
-Kalça,diz veya ayakbileğinde monoartrit
-Unilateral göğüs ağrısı(Plevrit veya perikardit)
-Yalnız ateş
-Kısmi abdominal ataklar
Minör Kriterler
-Aşağıdaki biri veya fazlasını içeren 1-2 kısmi atak
-Göğüs ağrısı
-Eklem ağrısı
-Egzersizle bacak ağrısı
-Kolşisin tedavisine olumlu yanıt
Teşhis: Bir majör veya iki minör kriter
Kısmi ataklar: Aşağıdaki bir veya iki özellikleri ile tipik ataklardan farklılık gösterirler.
1. Ateş normal veya 38°C nin altındadır
2. Atak süresi 6-12 saat arası veya 3-7 gün arası değişir
3. Abdominal atak esnasında peritonit bulgusu görülmez.
4. Abdominal ataklar lokalizedir.
5. Kalça,diz ve ayak bileği dışındaki eklemlerde artrit.

Tablo 7. Yalçınkaya-özen pediatrik AAA kriterleri³⁹

Kriter	Tanım
Ateş	(Axiller derece $\geq 38^{\circ}\text{C}$, 6-72 saat süreli en az üç atak)
Karın Ağrısı	(6-72 saat süreli en az üç atak)
Göğüs Ağrısı	(6-72 saat süreli en az üç atak)
Artrit	(6-72 saat süreli en az üç atak), oligoartrit
AAA Aile Öyküsü	
Beş kriterden en az ikisinin mevcudiyeti, % 86,5 sensitivite ve % 93,6 spesivitede AAA tanısı koydurur.	

2.1.7. Tedavi

Yakın zamanda farklı ülkelerden tecrübeli uzmanların uluslararası katılımıyla Romatizmaya karşı Avrupa Birliği (EULAR) tarafından en uygun kanıtlarla desteklenmiş olarak AAA yönetimi için tavsiyeler yayınlandı (Tablo 8).¹²⁹ EULAR tavsiyeleri, AAA tedavisindeki amacı akut atakların kontrolü, kronik ve subklinik inflamasyonun minimize edilmesi, komplikasyonlardan korunma ve kabul edilebilir hayat kalitesi temini olarak vurgulamaktadır.

2.1.7.1. Kolşisin

Kolşisin 1972 den beri AAA'nin ana tedavisidir. Genellikle güvenilir ve iyi tolere edilen bir ilaçtır. Fakat AAA'ndeki aksiyon mekanizması hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak kolşisinin tubulin monomerlerine bağlanıp polimer

formasyonunu inhibe ederek mikrotübül uzamasını önlediği bilinmektedir. Pirin ve kolşisin arasındaki ilişki aktin hücre iskeleti organizasyonu ile ilgili olabilir.¹³⁰

Daha önceleri kolşisinin RhoA aktivatörü olduğu ileri sürülmüştür.¹³¹ Tübüline bağlanır, mikrotübülleri depolimerize eder ve mikrotübüllere bağlı olduğu zaman inaktif olan RhoA aktivatör guanin-nükleotid-değişim faktör-H1 sekresyonuna sebep olur.¹³¹ Van Gorp ve arkadaşları mikrotübül depolimerize edici ilaçların selektif olarak pyrin inflamazom oluşumunu inhibe ettiklerini göstermişlerdir.¹³² Kolşisinin de, depolimerize mikrotübüllerden RhoA aktivatör salgılatarak, RhoA aktivasyonu ile pyrin inflamazomu oluşumunu inhibe ettiği değerlendirilmektedir. Kolşisin hem RhoA'yı aktive eder, hem de RhoA'nın bakteriyel toksinler tarafından inhibisyonunu geri çevirir. Bunun yanında steril aktivatörler de hasar ilişkili moleküler paternlere yol açan proenflamatuar sinyaller oluşturabilirler. Bu da stresle tetiklenen atakları açıklar.¹¹⁸

Kolşisinin saptanan diğer anti-enflamatuar etkileri; β -Tübülin-Kolşisin kompleksleri oluşturarak nötrofil aktivasyonunu engellemesi, mikrotübül birleşmelerini ve mitotik iğ oluşumunu önlemesi, kaspaz-1 gen ekspresyonunu suprese etmesi, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) sentezini inhibe etmesidir.^{130,133,134}

Kolşisin tedavisi amiloidozun önlenmesinde de temel tedavidir. Kolşisin amiliodogenik prekürsör protein üretimini azaltır. Kolşisin tedavisinin amiloid fibrillerini çözmesi beklenmese de kolşisin tedavisinin proteinürik safhanın stabilizasyonu veya rezolüsyonuna yol açabileceği gösterilmiştir.¹³⁵

Hastaya klinik olarak AAA teşhisi konur konmaz, kolşisinin başlanması önerilir. Eğer hasta klinik bulgu göstermiyorsa genetik tanı, tedavi başlanması için kesin endikasyon değildir. Ancak bu hastalar klinik semptomlar veya subklinik enflamasyon bulguları açısından yakından izlenmelidir.¹²⁹ Amiloidoz sıklığının yüksek olduğu ülkelerde eğer hasta homozigot M694V mutasyonuna sahipse doktor tedavi başlamayı değerlendirmelidir. Bu mutasyon amiloidoz gelişimi ile en fazla birliktelik gösteren mutasyondur.³³

Tablo 8. AAA yönetiminde uzlaş, kanıt seviye ve tavsiye derecesi ile birlikte EULAR tavsiyeleri¹²⁹

NO	TAVSİYE	UZLAŞI SEVİYESİ	KANIT SEVİYESİ	TAVSİYE DERECESİ
1	İdeal olarak, AAA bu konuda tecrübe sahibi bir doktor tarafından teşhis edilip tedavisine başlanmalıdır.	7,6	5	D
2	AAA tedavisinin esas amacı provoke edilmemiş atakların tamamen kontrolü ve ataklar arasındaki subklinik enflamasyonun minimize edilmesidir.	9,3	4	C
3	Klinik tanı konur konmaz kolşisin tedavisi başlanmalıdır.	8,9	1b	A
4	Tolerans ve uyuma bağlı olarak dozlar tek veya ikiye bölünerek verilebilir.	9,4	5	D
5	Atakların veya subklinik enflamasyonun persiste etmesi kolşisin dozunun artırılması için bir endikasyon oluşturur.	9,7	3	C
6	Tolere edilen maksimum kolşisin dozuna cevap vermeyen uyumlu hastalar tedaviye yanıtız veya dirençli olarak değerlendirilebilirler. Bu hastalarda alternatif biyolojik tedaviler endikedir.	9,8	2b	B
7	AA amiloidozis gelişmiş hastalarda, AAA tedavisi tolere edilen maksin kolşisin dozu yanında ihtiyaç halinde biyolojik ajan takviyesiyle yoğunlaştırılmalıdır.	9,5	2b	C
8	Fiziksel veya duygusal stres periyodları AAA ataklarını tetikleyebildiklerinden, bu dönemlerde kolşisin dozunun geçici olarak artırılması uygun olabilir.	7,6	5	D
9	Tedaviye cevap, toksisite ve uyum her 6 ayda bir izlenmelidir.	8,6	5	D
10	Kolşisin tedavisi alan AAA hastalarının karaciğer enzimleri düzenli olarak izlenmelidir, eğer karaciğer enzimleri üst sınırın iki katından fazla yükselirse kolşisin dozu azaltılmalı ve sebebe yönelik ileri araştırma yapılmalıdır.	8,4	5	D
11	Azalmış renal fonksiyonlu hastalarda toksisite riski çok yüksek olduğundan, kolşisin toksisite bulguları ve CPK dikkatlice izlenmeli ve buna göre kolşisin dozu azaltılmalıdır.	9,3	4	C
12	Kolşisin toksisitesi ciddi bir komplikasyondur ve layıkıyla kuşku duyulmalı ve önlenmelidir.	9,4	4	C
13	Bir ataktan kuşku duyduğunuzda daima olası diğer nedenleri de değerlendirin. Atak esnasında olağan kolşisin dozuna devam edin ve NSAİİ kullanın.	9,5	2b	C
14	Kolşisin, konsepsiyon, gebelik veya laktasyon esnasında kesilmemelidir. Geçerli kanıtlar amniyosentez ihtiyacı göstermemektedir.	9,3	3	C
15	Genel olarak erkeklerin konsepsiyon için kolşisini kesmelerine ihtiyaç yoktur, kolşisinle ilişkili olduğu kanıtlanmış nadir azospermi veya oligospermi vakalarında geçici doz azaltımı veya kesimine ihtiyaç olabilir.	8,2	3	C
16	AAA hastalarındaki kronik artritlerde, HMARİ'lar, intra-artiküler stero enjeksiyonları veya biyolojik ajanlar gibi ek tedaviye ihtiyaç duyulabilir.	9,5	2b	C
17	Uzun süren febril myalji, glukokortikoidler semptomları çözebilir, NSAİİ'lar ve IL-1 blokajı da bir tedavi opsiyonu olabilir ; egzersizle bacak ağrısı tedavisinde NSAİİ'lar tavsiye edilmektedir.	9,3	2b	C
18	Eğer bir hasta 5 yıldan uzun süredir atak geçirmemiş ve akut faz reaktar yükselmemiş ve stabilse, uzman konsültasyonu sonrası ve devamlı izler doz azaltımı değerlendirilebilir.	8,0	5	D

AFR: Akut faz reaktanları, CPK: Kreatinin fosfokinaz, HMARİ: Hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar
EULAR: Romatizmaya karşı Avrupa birliği, IL-1: interlökin 1, NSAİİ: Steroid dışı anti inflamatuvar ilaçlar

Kolşisin için tavsiye edilen başlangıç dozları; 5 yaştan küçük ise $\leq 0,5$ mg/gün, 5-10 yaş arasında ise 0,5-1 mg/ gün, 10 yaş üstünde ise 1-1,5 mg/gündür.⁵⁰

Yüksek hastalık aktivitesi gösteren hastalarda veya amiloidoz gibi komplikasyonlarda daha yüksek başlangıç dozları kullanılabilir.¹²⁹ Genellikle pek çok hastada 0,5 mg/gün gibi subteropatik dozda başlanıp takipteki hastalık aktivitesi ve toleransa göre doz ayarlaması yapılır. Aktif hastalıkta kolşisin dozu yükseltilirken en az üç ayda bir C-reaktif protein (CRP) veya SAA veya ikisi birden görülmelidir.¹²⁹ Atak

sıklığının artması ve subklinik enflamasyonun varlığı kolşisin dozu artırımı için endikasyonlardır. Maksimum doz, çocuklarda 2 mg/gün ve yetişkinlerde 3mg/gündür. Günlük doz yan etkileri azaltmak için ikiye bölünerek veya hasta uyumunu artırmak için tek seferde verilebilir.¹²⁹

AAA'nde kolşisin tedavisi hayat boyudur. Ancak EULAR tavsiyelerinde AAA uzmanları, tecrübeli bir merkezde belirlenmiş kesin şartlarda çok dikkatli ve yakın takiple kolşisin doz indiriminin değerlendirilebileceğini tavsiye etmektedirler.¹²⁹

Kolşisin AAA tedavisi için kullanılan dozlarda güvenli bir ilaçtır. Ancak hastaların % 5 ile % 10'u etkin dozda kolşisine tolerans göstermez ve şiddetli ishal, nöropati, rabdomiyoliz ve kemik iliği supresyonu görülebilir.¹³⁶ En yaygın yan etkisi gastrointestinal rahatsızlıktır. Tedavinin ilk ayında hastaların %10 unda görülebilir. Uzun dönem kolşisin tedavisi altındaki hastalarda jejunal laktaz, sükras ve maltaz aktivitelerinin düştüğü gösterilmiştir.¹³⁷ Bu hastalarda aynı zamanda nişasta, yağ ve safra asitlerinin artmış fekal ekskresyonu ve vitamin B12 ve D-Xylose'un azalmış absorpsiyonu gözlenir. Bu ishal ve laktoz intoleransına açıklama getirebilir. Laktozsuz diyetle semptomatik düzelme sağlanabilir.¹³⁷ Doz azaltılması gastrointestinal semptomları azaltabilir. Kolşisinin diğer nadir yan etkileri ise; vitamin B12 yetmezliği, geri dönüşümlü periferik nörit ve miyopati, kemik iliği supresyonu ve alopesidir.¹²⁹ Kolşisin kullanımı gebelikte ve laktasyonda da güvenli bulunmuştur.

AAA yönetimi için kolşisine hasta uyumu çok önemlidir. Proteinüri genelde renal amiloidozisin ilk bulgusudur. Yetişkin AAA hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, 9-11 yıllık takip periyodunda, düzenli kolşisin kullanan 960 hastanın sadece % 1,7'sinde proteinüri gelişimi gözlenmiş iken, kolşisine uyumsuz 54 hastanın % 49'unda proteinüri gelişimi gözlenmiştir.⁸³ Özellikle adolesan hastalarda kolşisine uyumsuzluk beklenmedik şekilde yüksektir. Kolşisine cevapsız hastalarda hasta uyumsuzluğu da gözönüne alınmalıdır. Tüm AAA hastalarının % 5 kadarı kolşisine cevap vermeyebilir, % 2-5 kadarı da kolşisin tedavisine uyumsuzluk gösterebilir.¹²⁹

2.1.7.2. Biyolojik Ajanlar

Kolşisine yanıtız hastaların yanısıra aşağıdaki gruplardaki hastalarda tedavide biyolojik ajanlar kullanılmaktadır.

1- Amiloidoz

2- Reküren uzamış febril myalji ve sık steroid ihtiyacı

3- Persistan artrit⁹²

Bu hastalarda anti-IL-1 tedavi umut verici bir ikinci basamak tedavi olarak görülmektedir. Ancak kolşisinin, amiloidozis riskini azaltabilmesi sebebiyle, biyolojik tedavilerle kombine edilebileceği akılda tutulmalıdır.¹²⁹ Klinik kullanımda üç çeşit anti-IL-1 ajan bulunmaktadır.

2.1.7.2.1. Anakinra

Anakinra, insan IL-1 reseptörünün rekombinant homologudur ve IL-1 α ve IL-1 β 'nın reseptörüne bağlanmasını yarışmalı bir şekilde inhibe eder. Günlük subkütanöz enjeksiyon olarak uygulanır. Anakinra azami dozu 100 mg olmak üzere hergün 1-2 mg/kg ciltaltı olarak uygulanmaktadır.¹³⁸

2.1.7.2.2. Canakinumab

Canakinumab, IL-1-beta'ya karşı yönlendirilmiş bir insan IgG1 monoklonal antikorudur. 4-8 haftada bir subkütan olarak uygulanır. Canakinumab AAA hastalarında 8 haftada bir 2 mg/kg ciltaltı olarak uygulanmaktadır.¹³⁹

2.1.7.2.3. Rilonacept

Rilonacept, IL-1'i bağlayan ve nötralize eden insan IL-1 reseptörünün hücre dışı bölümleri ve insan IgG1'in Fc bölgesinden oluşan bir dimerik füzyon proteindir.¹³⁸

Yapılan çalışmalarda tedaviye tam yanıt, anakinra ile tedavi edilenlerin % 76,5 inde, canakinumab ile tedavi edilenlerin % 67,5 inde rapor edilmiştir.¹³⁶ Bunun yanında renal amiloidozisli hastalarda IL-1 blokajının proteinüriyi de ortadan kaldırabildiği gösterilmiştir. Ayrıca, böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda, anti-IL-1 tedavisi kullanıldığında amiloidozun tekrarlamadığı da rapor edilmiştir.¹³⁶ Ancak, anti-IL-1 tedavinin amiloidoz gelişimini engelleyip engellemediği henüz bilinmemektedir.

IL-1 blokajı yanında, kronik artritli ve/veya sakroileitli AAA hastaları hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlardan veya anti-TNF ajanlardan da fayda görebilir.¹⁴⁰ Uzamış febril myalji sendromlu AAA hastalarında anakinra kullanımı ile de başarı elde edilmiştir.⁹¹

2.1.8. Kolşisine Dirençli AAA

EULAR önerilerinde; 6 ay veya daha uzun süredir tolere edilen maksimum kolşisin dozunu almalarına rağmen, ayda bir veya daha fazla atak geçiren hastaların tedaviye yanıtı veya kolşisine dirençli olarak değerlendirilmesi uygun görülmüştür.⁵⁰ Dikkat edilmesi gereken bir başka önemli nokta ise subklinik enflamasyonun devam edip etmemesidir. Subklinik enflamasyonun devam etmesi hastalarda amiloidoz gelişme riski yaratmaktadır. AA amiloidozis gelişen vakalarda AAA tedavisi tolere edilen maksimum kolşisin yanında biyolojik ajanlarla desteklenmelidir.¹²⁹

2.1.9. Hastalık Aktivitesi

AAA'nde hastalığın gidişini ve hastalık aktivitesini değerlendirmek için birkaç aracımız mevcuttur; FMF50 skoru, otoenflamatuar hastalık aktivite endeksi ve AAA uluslararası şiddet skorlama sistemi (Tablo 9).

FMF50'de bakılan maddeler; atakların süre ve sıklığındaki değişim yüzdesi, artrit atakları, doktorun ve hastanın ailesinin global hastalık şiddeti değerlendirmesi (0-10 en kötü), ve tedavi ile ESH, CRP veya SAA düzeyi değişimi.¹⁴¹

Tablo 9. FMF 50 yanıtı

AAA'da tedaviye yanıtı belirlemek için sonuç ölçütleri	
1.	Tedavi ile atak sıklığı yüzdesinde değişim
2.	Tedavi ile atak süresindeki yüzdesel değişim.
3.	Hasta veya ebeveynlerin hastalık şiddetini global değerlendirmesi (VAS)
4.	Doktorun hastalık şiddetini global değerlendirmesi (VAS)
5.	Tedavi ile artrit ataklarındaki yüzdesel değişim
6.	Tedavi ile CRP, ESH veya SAA düzeylerindeki yüzdesel değişim (Son ataktan en az 2 hafta sonra)
CRP: C Reaktif protein, ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SAA: Serum amiloid A, VAS: Görsel analog skorlaması	

3-6 ay içinde bu altı kriterin hiçbirinde kötüleşme olmadan, beşinde en az %50 iyileşme FMF50 cevabını gösterir.¹⁴¹ Hastaları FMF50 skoru ile değerlendirebilmek için, maksimum ilaç dozuna uyumun gerekliliği unutulmamalıdır.

Otoenflamatuar hastalık aktivite endeksi, AAA'yı da içeren otoenflamatuar hastalıklar için tasarlanmış bir hastalık aktivite değerlendirme aracıdır. 13 semptom içerir; bulantı/kusma, karın ağrısı, diyare, göğüs ağrısı, artralji veya myalji, eklemlerde şişlik, baş ağrısı, göz bulguları, ciltte döküntü ve ağrıda azalma.¹⁴² Ağrıda azalma

dışındaki tüm maddeler hastalar/aileleri tarafından günlük olarak 0-34 arasında ve aylık olarak 0-1054 arasında skorlanır (31 gün). 9 ve üstü aktif hastaları inaktif hastalardan ayıran değer olarak kabul edilir ve bu endeksin duyarlılığı % 89 ve spesifitesi % 92'dir.¹⁴²

Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi amacıyla toplanan son panelde ise hem yetişkin hem de çocuklarda kullanılmak üzere AAA uluslararası şiddet skorum sistemi kullanım için önerilmiştir (UŞSS) (Tablo 10).

Tablo 10. AAA için uluslararası şiddet skorum sistemi (UŞSS)

	Kriter	Puan
1	Kronik sekel (amiloidoz, büyüme geriliği, anemi veya splenomegali)	1
2	Organ disfonksiyonu (AAA ile ilişkili nefrotik düzeyde proteinüri)	1
3	Organ yetmezliği (AAA ile ilişkili kalp, böbrek, vb.)	1
4a	Atak sıklığı (ayda ortalama 1 ila 2 atak)	1
4b	Atak sıklığı (ayda ortalama 2 ataktan fazla)	2
5	Ataksız dönemde (son ataktan ≥ 2 hafta sonra) 1 ay arayla en az 2 kez, akut faz reaktanlarında (CRP, SAA, ESH, fibrinojen) yükseklik	1
6	Akut atak sırasında ikiden fazla sistemin tutulumu (perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis tutulumu, miyalji vb.)	1
7	Hastalığın seyri sırasında ikiden fazla farklı atak tipi (izole ateş, perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis tutulumu, miyalji ve benzeri)	1
8	Atakların süresi (yılda en az üç kez 72 saatten uzun atak)	1
9	Eforla bacak ağrısı (diğer sebepler dışlandıktan sonra, uzun süreli ayakta durma ve / veya egzersiz sonrası ağrı)	1
Ağır hastalık ≥ 6 , orta dereceli hastalık 3–5, hafif hastalık ≤ 2 .		

2.1.10. Hasar Değerlendirilmesi

Otoinflamatuvar hastalıklar için, hastalardaki hasarı belirlemek ve hastalığın gidişatını klinik çalışmalarla karşılaştırabilmek için tek bir aracımız vardır; otoinflamatuvar hastalık hasar endeksi. Otoinflamatuvar hastalık hasar endeksinde, fonksiyon veya yapıda, en az 6 aydır mevcut olan persistan veya geri dönüşümsüz değişiklikler hasar olarak tanımlanır. Otoinflamatuvar hastalık hasar endeksi 18 madde içerir ve bu maddeler organ sistemlerine göre kategorize edilmişlerdir; üreme, renal/amiloidoz, gelişimsel, serozal, nörolojik, kulaklar, göz ve kas-iskelet sistemi. Renal/amiloidoz ve nörolojik hasar kategorileri en yüksek puana sahipken serozal hasar ise en düşük puana sahiptir. AAA'ndeki kronik inflamasyona bağlı hasarı ölçebilmek için bu endeks bize evrensel bir enstrüman sağlar.¹⁴³

2.1.11. AAA'da İleri Araştırma Konuları

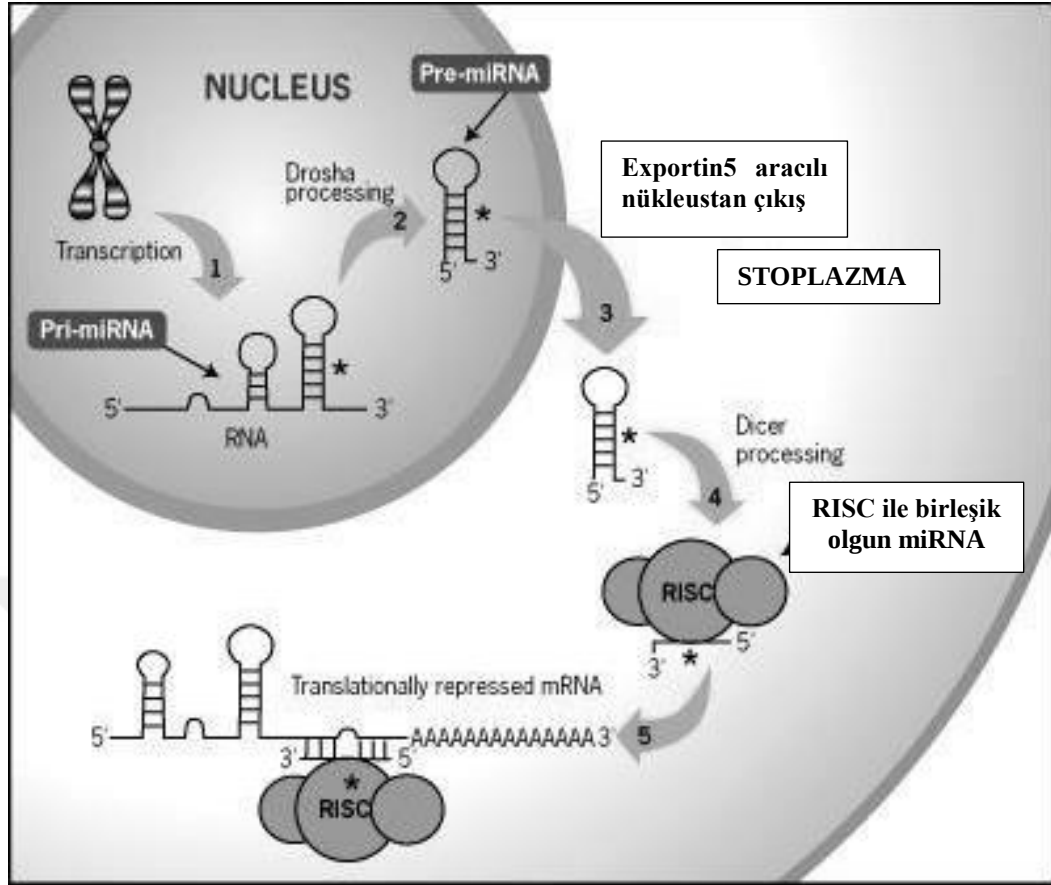
Hastalık patogenezinde, fenotipik ekspresyonunda ve şiddetinde modifiye edici faktörlerin rolleri hala tam anlaşılamamıştır. AAA hastalığı patogenezinde rol alan miRNA'lar da daha henüz net olarak ortaya konmamıştır. Biz de bu çalışmamız ile AAA hastalığı patogenezinde etkin rol alan miRNA ları ortaya koymaya çalıştık.

2.2. MikroRNA (miRNA)

İlk miRNA, *Lee* ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ta lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe etmesiyle rapor edildi.¹⁴⁴ Ancak bulunan bu genetik materyal için miRNA terimi ilk defa 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır.¹⁴⁵ 1993 te *Caenorhabditis elegans*'ta miRNA ların keşfinden beri, pek çok türde ve memelilerde miRNA ların mevcudiyeti doğrulandı.¹⁴⁶ Halihazırda insan genomunda 2000 tipi aşkın miRNA bulunmuştur (www.mirbase.org).¹⁴⁷

Son 20 yılda miRNA'lar pek çok biyolojik alanda dikkatleri üzerine toplamıştır. miRNA lar gelişim, farklılaşma, hücre proliferasyonu, apoptozis, stres cevabı vb fizyolojik ve patolojik pek çok olayda önemli rol oynayan ve hedef genlerinin ekspresyonunu düzenleyen küçük, düzenleyici RNA molekülleri olarak tanımlanmıştır.¹⁴⁸

MiRNA'lar yaklaşık 18 ila 25 nükleotid uzunluğunda küçük kodlayıcı olmayan RNA molekülleri olup çeşitli hastalıklarda gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenleyicileri olarak fonksiyon görmektedirler.¹⁵ Memelilerde protein kodlayan genlerin % 50'si veya daha fazlasının aktivitesini etkileyebilirler. Ekspresyonlarındaki değişiklikler, romatolojik hastalıklar, kanser ve enfeksiyöz hastalıklarla ilişkilidir. Keşfedilen pek çok miRNA'nın, translasyonun inhibisyonu veya mRNA stabilitesinde azalma şeklinde protein ekspresyonunu negatif şekilde regüle ettikleri gösterilmiştir. Artık miRNA ların hücresel aktivitenin, diferansiyasyon, proliferasyon, apoptozis dahil her yönünü potansiyel olarak düzenleyebildikleri açıktır. Geniş bir yelpazedeki fizyolojik ve patolojik prosesleri de düzenleyebilirler.¹⁴⁹



Şekil 4. miRNA oluşum basamakları¹⁵⁰⁻¹⁵³

2.2.1. miRNA Biyogenez ve Fonksiyonu;

Memeli miRNA biyogenezinde ilk basamak primer miRNA kopyalarının (pri-miRNA) çekirdekte oluşturulmasıdır.¹⁵⁴ Pri-miRNA'lar saç tokası şeklinde katlanır, Drosha için substrat haline gelir. Drosha, miRNA matürasyon prosesinde rol alan bir RNAze 3 ailesinden bir enzimdir. Drosha yarıлма ürünü, yaklaşık 70 nükleotidlik prekürsör miRNA'dır (pre-miRNA). Dicer ile işleme sokulmak üzere stoplazmaya çıkartılır. Dicer ise RNAze 3 ailesi üyesi bir enzimdir. Pre-miRNA'yı 20-23 nükleotidlik miRNA/miRNA ikililerine çevirir.¹⁵⁴ Bir miRNA ipliğinin diğer RNA ipliğindeki RNA ile indüklenen susturma kompleksine (RISC) ayrıcalıklı yüklenmesi açıkça miRNA ikilisinin termodinamik stabilitesine bağlıdır. RISC içeren matür miRNA hedef mRNA'sına genelde 3' UTR ucunda bulunan kök-dizi uyumu ile bağlanır ve onu susturur. miRNA'lar ayrılabilir veya bozulabilir. Son raporlar, bazı miRNA'ların stabil olarak eksprese edildiklerini ve önemli fonksiyonlarda rol aldıklarını göstermektedir. Zhou ve ark. miR-155 in upregülasyonunu ve miR-155 in insan

plazmositoid dendritik hücrelerde tip-1 interferon üretimini stimülasyon fonksiyonunu gösterdiler.¹⁵⁵

2.2.2. Romatolojik Hastalıklarda miRNA'lar

miRNA'ların pek çok biyolojik olayda önemli rolleri olduğu ortaya konmuştur. Gen ekspresyonunda ana düzenleyici olarak değerlendirilmektedirler. Tek bir miRNA tek bir yolağı veya pek çok yolakları kontrol edebilir. İmmün sistemin düzenlenmesi, pek çok patolojiyi önlemek için hayatidir. Memeliler, immün düzenlenme ile yabancı patojenlere immün yanıtı izin verirken, kendi hücrelerine tolerans sağlayacak kompleks bir sistem geliştirmişlerdir. Son yıllarda, anormal immün olaylar ve romatolojik hastalıklarda miRNA'ların santral rollerini destekleyen daha fazla kanıt ileri sürülmüştür. Gerçekte, romatolojik hastalıklarda biyobelirteç olarak miRNA'ların potansiyeli, yeni ve büyüyen bir araştırma alanıdır. Romatolojik bozukluklarla ilişkili genleri hedef alan aday miRNA'ların tespit edilmesi ve hedef bölgedeki mutasyonun eşlik ettiği sonuçların fenotipik ve gen ekspresyonu çalışmalarıyla değerlendirilmesi romatolojik hastalıkların moleküler mekanizmalarına ışık tutabilir.¹⁶

İmmüitenin çeşitli alanlarında, miRNA-146a ana düzenleyici olarak ilginç bir örnek olarak görülmektedir. Özellikle, TNF α gibi sitokinlerin aşırı üretimini kontrol altına almaya katkıda bulunur. Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonda, endotoksin toleransı ve çapraz tolerans sağlayarak, doğal immünite üzerinde, toll-like reseptör (TLR) sinyali üzerinden negatif feed back kontrolü olarak fonksiyon görür.^{156,157} Lu ve ark. regülatuar T hücrelerin(Treg) supressor fonksiyonları için miRNA-146a'nın kritik olduğunu gösterdiler.¹⁵⁸ miRNA-146a eksik farelerde, immün tolerans kaybı ve çeşitli organlarda IFN γ ' ya bağlı immün kaynaklı ölümcül lezyonlar görülmüştür.^{16,158} Tek bir miRNA ile ne kadar spesifik hücresel tepkilerin kontrol edilebileceğinin bu deney güzel bir örneğidir. Otoimmün hastalıkların başlangıcından miRNA'ların fonksiyon kaybı sorumlu olabilir. Bir başka çalışmada Curtale ve ark, miRNA-146a'nın T hücre aktivasyonunda rol aldığını ve matür insan hafıza T hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermiştir.¹⁵⁹

Otoimmünitedeki anahtar rolü yüzünden yoğun şekilde araştırılan bir diğer miRNA ise miRNA-155'tir. Yardımcı T hücrelerinden Th17 ve Th1 hücre alt

kümelerinin de dahil olduğu enflamatuvar T hücrelerinin gelişimini desteklemek üzere hemapoetik kompartmanda fonksiyon görür.¹⁶⁰

Kollajen ile uyarılmış artrit ve K/BxN serum transfer artritli fare modellerinde de miRNA-155 önemli bir rol oynamaktadır.¹⁶¹ miRNA-155 bulundurmeyen fareler kollajen ile uyarılmış artrit geliştirmediler. K/BxN serum transfer artrit modelinde, miRNA-155 içermeyen fareler, patojenik otoreaktif B ve T hücrelerde ve sitokin üretiminde (IL-6, IL-17, IL-22) düşüş gösterdiler. Osteoklastların azalmış üretimine bağlı olarak da lokal kemik destrüksiyonunda azalma ortaya kondu.¹⁶¹ Bu sonuçlar romatoid artritte miRNA'ların tedavideki olası rollerini desteklemektedir.¹⁶

miRNA-155 enflamasyonu güçlendiren ve miRNA-146a enflamasyonu inhibe eden, karışık etkiler gösterirler.^{162,163} MiRNA-146a'nın bağışıklık sisteminin bir freni olarak kritik rolü, bu miRNA için genetik olarak ablasyon yapılmış farelerde açıkça gösterilmiştir.^{164,165} Özellikle, miRNA-146a'nın yokluğu, farelerin LPS'ye karşı aşırı duyarlılığı, splenomegali, lenfadenopati ve erken ölüm ile karakterize edilen ve çok önemli miyeloproliferasyonu teşvik eden bir immünoproliferatif bozukluğun ortaya çıkmasına neden olmuştur.¹⁶⁴ Dahası, miRNA-146a içermeyen yaşlanan fareler, ikincil lenfoid organlarda kendiliğinden gelişen tümörler geliştirdiler ve immün hücrelerin gelişimini ve aktivasyonunu düzenleyen bu miRNA için önemli bir role işaret ettiler.^{164,165}

Özellikle, dendritik hücrelerin farklılaşması ve olgunlaşması sırasında, miRNA-221 ve miRNA-155, apoptoz ve IL-12 sitokin üretiminin önemli düzenleyicileri olduğu öne sürülmüştür.¹⁶⁶

Artmış miRNA-155 ifadesi dendritik hücrelerin aktivasyonu ve olgunlaşmasının belirleyici bir özelliği olarak görülmektedir ve işlevleri için de gerekli görünmektedir.¹⁶⁷ Gerçekten de, bic/miRNA-155 eksik farelerdeki dendritik hücreler, T hücrelerini etkin bir şekilde aktive etmeyi başaramamıştır. Bu da, bu hücrelerin kusurlu antijen sunumunu veya kostimülatör işlevlerini belirtir ve bu nedenle bu farelerde gözlenen toplam bağışık yanıtın azalmasına katkıda bulunur.¹⁶⁸

MiRNA'ların otoimmünite ve bağışıklık fonksiyonlarına önemli bir etkisinin olduğu, yapılan hücre kültürü ve hayvan çalışmalarıyla giderek netleşmektedir.¹⁶⁵ Ayrıca, insan çalışmaları da, miRNA ekspresyonunun otoimmünite ve Ankilozan

Spondilit (AS), Romatoid artrit (RA) ve Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) gibi çeşitli romatizmal hastalıklarda değişmiş olduğunu göstermektedir.^{169,170}



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Çukurova Üniversitesi Yerel Etik Kurulu'nun 6 Mart 2015 tarihli onayı ve 2015-4057 Proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Fonu desteği ile yürütülmüştür.

3.1. Çalışmaya Alınan Olguların Seçimi ve Grupların Oluşturulması

Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Romatoloji Polikliniği tarafından AAA tanısı ile takip edilmekte olup 01 Mart 2017 ile 31 Temmuz 2017 tarihleri arasında Çocuk Romatoloji Polikliniğine kontrol amacı ile başvuran hastalar dahil edilmiştir. Tüm olguların ailelerine yapılan incelemenin amacı hakkında bilgi verilerek sözlü ve yazılı olarak onamları alındı. 18 yaşından büyük hastaların kendilerine bilgi verilerek kendilerinden sözlü ve yazılı onam alındı.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- Hastanın, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Romatoloji Polikliniği tarafından AAA tanısı ile takip edilmekte olması (Polikliniğimizde AAA tanısı için Tel Hashomer Kriterleri temel alınmaktadır).

- Aile onamı alınmış olması

Aile onamı için bilgilendirilmiş gönüllü onam formu kullanılmıştır (Ek-1).

- 01 Mart 2017 ile 31 Temmuz 2017 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Çocuk Romatoloji Polikliniğine kontrol amacı ile başvuruda bulunmuş olması

Çalışmadan dışlama kriterleri:

- Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Romatoloji Polikliniği tarafından 01.Mart 2017 ile 31.Temmuz 2017 tarihleri arasında yeni tanı alan AAA hastaları

- Çalışma için onam alınamayan hastalar

- Daha önce AAA tanısı konmuş olmasına rağmen kolşisin tedavisi kesilmiş hastalar.

Belirtilen süre içerisinde çalışmaya 351 hasta alındı. Tüm hastalar bölgemizdeki AAA hastalarının demografik verilerinin ortaya konması amacıyla dosyaları üzerinden

geriye dönük tarandı. Hastaların MEFV gen mutasyonları Çukurova Üniversitesi Tıbbi Genetik Bölümü tarafından DNA sekanslama yöntemi ile çalışılmıştı. Hastalar genetik mutasyonlarına göre iki farklı gruptandırılmaya tabi tutuldular. Birincisinde çalışmaya alınan hastalar 4 gruba ayrıldı.

Grup 1: M694V Homozigot hastalar

Grup 2: M694V Compound Heterozigot hastalar

Grup 3: M694V Heterozigot hastalar

Grup 4: M694V dışı mutasyonlu ve mutasyon negatif hastalar

İkincisinde ise tüm hastalar 2 gruba ayrıldı.

Grup A:Ekzon 10 mutasyonu olan hastalar

Grup B: Ekzon 10 dışı mutasyonlu ve mutasyon negatif hastalar.

Hastaların yaş, cinsiyet, şikayet başlangıç yaşı, tanı yaşı, klinik bulgular ve demografik bulguları karşılaştırıldı. Hastaların dosyalarındaki tüm laboratuvar verileri (AST, ALT, BUN, Cr, CRP, tam idrar incelemeleri) ÇÜTF Balcalı Hastanesi merkez laboratuvarında mevcut sistemde bulunan otoanalizörde çalışıldı.

Bu hastalardan 191 tanesi miRNA çalışması için kan örneği vermeyi de kabul etti. Bu hastalardan alınan kan örnekleri de serumları ayrıştırılarak miRNA açısından taramak üzere -80°C’de saklandı.

Bu çalışmada kontrol grubu olarak kullanılmak üzere aynı tarihlerde Çukurova Üniversitesi Genel Çocuk Polikliniğine başvuran hastalardan gönüllü olan ve büyüme gelişme geriliği ve aktif enfeksiyon bulgusu olmayan 31 hastadan da aynı şartlar ve yöntemle kanları alındı. Santrifüj edilerek miRNA çalışması için kontrol grubu olarak -80°C’de saklandı.

3.2. Olguların İncelenmesi ve Uygulamalar

Tüm hastalar dosyaları üzerinden tarandı. Hastaların cinsiyetleri, doğum yeri, doğum tarihi, hastalık başlangıç yaşı, başvuru tarihi, başvuru şikayetleri, anne-baba akrabalık durumu, ailede AAA öyküsü, apendektomi, tonsillektomi, splenomegali varlığı, akut faz reaktanları, genetik mutasyonları, kolşisin başlanma zamanı, kullandığı kolşisin dozu, kolşisine hasta uyumu, atak süresi, kolşisin öncesi ve sonrası yıllık atak sayıları, kolşisine ilave kullandığı biyolojik ajanlar, ataklar esnasındaki bulguları, kronik artrit ve efor ile ekstremitte ağrısı varlığı, eşlik eden hastalıklar, hastaların ilk

başvurudaki ve son kontroldeki kan ve idrar laboratuvar değerleri incelendi. Çalışmaya alınan her hasta için kullanılan veri toplama formu Ek-2’de gösterildi.

Bu hastalardan 191 tanesi miRNA çalışılmak üzere kan örneği vermeyi de kabul etti. Hastalardan EDTA içeren kan tüplerine venöz kan alınmış ve alınan kan örneklerinde pıhtı oluşmamasına dikkat edilmiştir. Eğer pıhtı oluşmuşsa örnek çalışma dışı bırakılmış ya da yeniden örnek alınmıştır. Tüpler 10 dk süreyle Universal 16R Hettich Zentrifugen santrifüj cihazında 3500 rpm de santrifüj edilerek, santrifüj işleminin ardından supernatan dikkatlice RNase/DNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine 200 µl’lik olacak şekilde alikotlanmıştır. Mikrosantrifüj tüpleri ait oldukları hastaların bilgileriyle numaralandırıldıktan sonra -80°C de ileri deneysel aşamalar için saklanmıştır. Kontrol grubundaki 31 hastadan alınan kan örnekleri de aynı işlemlere tabi tutularak -80°C de ileri deneysel aşamalar için saklanmıştır.

3.3. miRNA ÇalışmaYöntemi

3.3.1. Total RNA İzolasyonu

Hasta örneklerinden total RNA izole etmek için Qiagen RNeasy Mini Kit’i (Hilden, Germany) kullanılmıştır. Üretici firma kullanma talimatlarına göre çalışılmıştır.

- a. Hasta örnekleri 2 ml santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Örneklerin üzerine 160 µl lysis tampon solüsyonu ilave edilmiştir. Karışım 10000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiştir.
- b. Örnek üzerine 1 ml ksilen eklenerek, 5 sn vortekslenmiş ve 10000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant pellete zarar vermeden tüpten uzaklaştırılmıştır.
- c. Pelletin üzerine 1 ml %95-100 ethanol ilave edilerek ve vortekslenmiştir. 10000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir.
- d. Süpernatant pellete zarar vermeden tüpten uzaklaştırılarak, tüpteki tüm alkol uygun pipet ile alınmıştır. Tüp kapağı açık bırakılarak oda koşullarında veya maksimum 37°C’de 10 dk bekletilerek tüpteki ethanol uzaklaştırılmıştır.
- e. Tüpe 150 µl PKD tamponu eklenerek vortekslenmiştir.
- f. Tüpe 10 µl proteinaz K eklenerek pipetaj yapılmıştır.
- g. Tüpü ısı bloğunda 56°C’de 15 dk, sonra 80°C’de 15 dk inkübe edilmiştir.

h. İnkübasyon sonrası tüpü buz üzerinde 3 dk bekletilerek ve 13500 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant, pellete zarar vermeden yeni temiz santrifüj tüpüne aktarılmıştır.

i. DNA Booster tampondan, toplam 1/10’u kadar DNase I solüsyondan da 10 µl tüpe eklenmiştir. Tüp alt üst edilerek karıştırılmıştır. Tüp oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir.

j. Tüpe 320 µl tampon RBC ilave edilerek vortekslenmiştir.

k. Tüpteki karışıma 1120 µl ethanol eklenerek ve pipetaj ile iyice karıştırılmıştır.

l. MiniElute spin kolonlara, tüpteki içerikten varsa çökelti ile beraber 700 µl eklenerek ve ≥ 10000 rpm’de 15 sn santrifüj edilmiştir. Süzüntü atık kabına atılmıştır.

m. Tüpe tampon 500 µl RPE ilave edilerek, ≥ 10000 rpm’de 15 sn santrifüj edilmiştir. Süzüntü atılmıştır.

n. Yeni 2 ml’lik santrifüj tüpü alınarak, içerisine kolon yerleştirilerek ve kapağı açık şekilde, maksimum hızda 5 dk santrifüj edilmiştir. Kolon 1,5 ml santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Kolon membranının tam ortasına gelecek şekilde 14-30 µl RNase içermeyen saf su membrana pipetlenmiştir. Maksimum hızda 1 dk santrifüj edilerek RNA tüpe süzölmüştür. İşlem sonunda 14 µl total RNA elde edilmiştir.

3.3.2. cDNA Reaksiyonun Hazırlanması

Dışkıdan izole edilen total RNA örnekleri Qiagen miScript II RT kit kullanılarak, bunlardan cDNA elde edilmiştir.

a. Aşağıdaki karışım 100 örnek + 2 pozitif kontrol için hazırlanmıştır (ölü hacimler dahil edilmiştir)

5x miScript Hispec buffer	168 ul
10x miScript Nucleics mix	84 ul
DNase-RNase free su	84 ul
miScript Rev. Transcriptase mix	84 ul
Toplam	420 ul

a. Karışım 8’li strip tüpe 51 ul dağıtılmıştır. Piko plate izole edilen RNA örnekleri 3,5 µl dağıtılmıştır.

b. Pozitif kontrol Cdna örnekleri kuyucuklara yerleştirilmiştir.

c. C-RT reaksiyonu için kuyulara örnek hacmi kadar nükleaz free su pipetlenmiştir.

d. Piko plate, plate karıştırıcı da 2000 rpm’de 3 dk karıştırılarak vortekslenmiştir. Karışım aşağıdaki thermal programda amplifiye edilmiştir.

37°C 60 dk

95°C 5 dk

4°C ∞

e. Thermal programının sonunda plate karıştırıcıda 60 sn santrifüj edilmiştir.

f. cDNA örneklerinden 3,5 µl alınarak, temiz bir piko plate içine pipetlenmiştir. Üzerine 14 µl nükleaz free su eklenerek, 1/5 oranında dilüsyon yapılmıştır.

3.3.3. miRNA Analizi

3.3.3.1. Preamplifikasyon Reaksiyonunun Hazırlanması

cDNA’lardan miRNA izole etmek için Qiagen miScript Microfluidics PreAmp kiti kullanılarak preamplifikasyon işlemi yapılmıştır.

a. Aşağıdaki karışım, hazır olarak temin edilen pream primer pool kullanılarak 90 örnek + 4 kontrol için hazırlanmıştır (ölü hacimler dahil edilmiştir)

5 x miScript Preamp buffer 230 µl

Hot Start taq DNA poly (2U/ ul) 92 µl

Preamp primer pool 230 ul

DNase-Rnase free su 322 ul

miScript Preamp Univ Primer 46 ul

Toplam 920 ul

b. Karışım 8’li strip tüpe 113 ul dağıtılmıştır. Piko plate sulandırılan CDNA örneklerinde 2 ul dağıtılmıştır.

c. Pikoplate, plate karıştırıcıda 2000 karıştırılacak ve CDNA’lar platedeki preamplifikasyon reaksiyonlarına 8 µl olacak şekilde dağıtılmıştır.

d. Pikoplate aşağıdaki thermal cycles programına alınmıştır. 95°C 15 dk

94°C 30 sn

60°C 3 dk 12 döngü

4°C ∞

e. Thermal cycler programı sonrası plate, plate karıştırıcıda 60 sn santrifüj edilmiştir. Sonra preamp örneklerinin üzerine 52µl SR1 + 78 µl DNA süspansiyon buffer pipetaj yapılarak karıştırılmıştır.

f. Piko plate, plate karıştırıcı da 2000 rpm’de 3 dk karıştırılarak, vortekslenmiştir. Vorteksten sonra plate 60 sn satrifüj edilerek ve aşağıdaki thermal cycler programına alınmıştır.

37°C 15 dk

95°C 5 dk

4°C ∞

g. Yeni bir piko plate preamp örneklerinden 5 µl pipetlenerek, 20 µ nükleaz free su eklenerek 1/5 oranında dilüe edilmiştir.

3.3.3.2. RT-PCR Mix ve Primer Hazırlanması

Çalışmada Qiagen miScript MicroFluidics PCR kiti kullanılmıştır.

a. miRNA’ların bulunduğu hazır plate aağıdaki gibi sulandırılacak BioMark (Fluidgm, Germany) ‘a yüklenmeye hazır hale getirilmiştir.

miScrip Microfluidics Universal Primer 180 µl

2xAssay Loading Reagent (Fluidigm) 360 µl

Rnase-free water 180 µl

Toplam 720 µl

b. Bu karışım bir 8’li strip tüpün tüm kuyularına 88’er µl olarak transfer edilmiştir. Assay plate paketinden çıkarılarak ve bir plate taşıyıcı üzerine konulmuştur. 8’li strip tüpten 6’şar µl alınacak Assay plate’in tüm kuyularına pipetlenmiştir.

c. Assay plate film ile kaplanmıştır. Plate karıştırıcı üzerine plate konularak ve el ile bastırılarak 10 sn vortekslenmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır.

d. RT-PCR karışımı aşağıdaki gibi 100 örnek + 6 kontrol için hazırlanmıştır;

Qpcr Master Mix 360 µl

20X DNA Binding dye 36 µl

Nuclease freewater 84 µl

Toplam 480 µl

e. Karışım 8’li strip tüplere 58 µl olacak şekilde dağıtılmıştır. Temiz bir piko plate alınarak, preamplifiye örneklerden 2 µl dağıtılmıştır.

f. Örnekler üzerine 4 µl hazırlanan PCR karışımı dağıtılmıştır ve kuyular kontrol edilmiştir.

g. Piko plate, plate karıştırıcı da 2000 rp'de 3 dk karıştırılarak ve vortekslenmiştir. Vorteklendikten sonra plate 60 sn santrifüj edilmiştir.

h. Hazırlanan primer ve PCR karışımı aşağıdaki 96.96 Flexsix GE chipin (Şekil 5) kuyularına 4,75 µl olarak pipetlenmiştir. Flexsix GE chipi Fluidigm (Biomark) (Şekil 6) cihazında yaklaşık 2 saat süren programda okutularak miRNA değerleri elde edilmiştir.



Şekil 5. 96.96 Flexsix GEchipin (Foto A)



Şekil 6. Flexsix GE Chipi Fluidigm (Biomark)(Foto B)

3.3.4. miRNA Analizi için İstatiksel Analiz

BioMark sistemden elde edilen Ct verilerinin istatistiksel analizinde, <http://www.qiagen.com/us/shop/genes-and-pathways/data-analysis-center-overview-page/web> sitesinden faydalanılmıştır. House keeping genin belirlenmesinde normfinder analizi yapılarak (<https://moma.dk/normfinder-software>) aday genler arasında SNORD68 en iyi gen olarak belirlenmiş ve house keeping olarak kullanılmıştır. Özellikle kontrol ve hasta gruplarının Delta Ct (eCt) değerleri, bu gruplardaki her bir kontrol örneğinin her bir assayde verdiği Ct değeri, SNORD68 kontrol genindeki Ct değerinden çıkarılarak hesaplanmıştır ve kontrol delta Ct değerleri elde edilmiştir. Bu delta Ct değerlerinin ortalama kontrol delta ct değeri ayrı ayrı çıkarılarak delta delta Ct (eeCt) değerleri bulunmuştur. Fold regulation sonuçlarının karşılaştırılmasında student t test yöntemi kullanılmıştır. İstatiksel olarak $p < 0.05$ olan miRNA'lar anlamlı olarak kabul edilmiştir. Fold regulation değeri “-” olan miRNA'lar kontrol grubuna göre hasta grubunda ekspresyon azalışını “+” yönde eksprese olan miRNA'lar ise kontrol grubuna göre hasta grubunda ekspresyon artışını göstermektedir.

3.3.5. miRNA ve Gen Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmada tespit edilen hasta grupları ile parazit tespit edilmeyen hastalarda saptanan miRNA panelleri ve gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma için SPSS programı kullanılmıştır.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında Bağımsız gruplarda T testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

SPSS referansı: IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

4. BULGULAR

4.1. Genel Demografik Özellikler

Çalışmaya alınan AAA hastalarında demografik veriler, klinik bulgular, anne-baba akrabalığı, AAA aile öyküsü, apendektomi öyküsü, tonsillektomi öyküsü, eşlik eden hastalıklar, kolşisin yanıtı, tedavi öncesi ve sonrası yıllık atak sayıları incelendi.

Çalışmaya alınan hastalarımızın genel demografik verileri, klinik bulguları ve kolşisin tedavi yanıtları Tablo 11’de sunulmaktadır. AAA hastalarında kadın/erkek oranı 0,87 (163/188) idi. Hastalığın başlangıç yaşı ortalama $5,02 \pm 3,47$ yıl idi. Hastalık ortalama tanı yaşı $7,99 \pm 3,75$ yıldır. Hastalık başlangıcı ile tanı arasında geçen ortalama süre $2,98 \pm 2,65$ yıl idi. Olguların 29’u apendektomi, 30’u tonsillektomi geçirmiş idi. Akraba evliliği 101 (% 28,8) ailede bildirilmiştir. Hastaların 133’ünde (% 37,9) AAA aile öyküsü pozitif görüldü.

4.2. Klinik Bulgular

Olgularda ateş, karın ağrısı, artrit/artralji, göğüs ağrısı, bulantı, kusma, erizipel benzeri eritem, eforla ekstremitte ağrısı, splenomegali, amiloidoz, proteinüri gibi klinik parametrelerin varlığı araştırılmıştır. Ana bulgular ateş (% 76,6), karın ağrısı (% 86,9), artrit (% 27,4) ve artralji (% 53,8) idi.

Tüm hastalara kolşisin tedavisi verilmişti. Ancak 29 hastanın düzenli kolşisin tedavisine tam uyum göstermediği saptanmıştı. Hastalar kolşisin yanıtı yönünden değerlendirildiğinde, hastaların 210’u (% 59,83) tam yanıt, 120’sinin (% 34,2) kısmi yanıt verdiği ve 21’inin (% 5,98) yanıt vermediği görüldü.

Tablo 11 AAA hastalarının genel demografik ve klinik özellikleri

AAA Hasta Özellikleri	Değerler
Toplam	351
Kız/Erkek	163/188
Hastalığın ortalama başlangıç yaşı	5,02± 3,47
Ortalama tanı yaşı	7,99± 3,75
Tanı ile hastalığın başlangıcı arası geçen süre	2,98± 2,65
Tedavi öncesi yıllık atak sayısı	18,83± 13,46
Tedavi sonrası yıllık atak sayısı	2,24±4,61
Ateş	269/351(%76,6)
Karın ağrısı	305/351(%86,9)
Artralji	189/351(%53,8)
Artrit	96/351(%27,4)
Göğüs ağrısı	33/351(%9,4)
Bulantı/Kusma	19/351(%5,4)
Erizipel benzeri eritem	18/351(%5,1)
Splenomegali	9/351(%2,6)
Eforla Ekstremitte ağrısı	129/351(%36,8)
Anne-Baba akrabalığı	101/351(%28,8)
Ailede AAA öyküsü	133/351(%37,9)
Apendektomi	29/351(%8,3)
Tonsillektomi	30/351(%8,5)
Amiloidoz	2/351(%0,6)
Proteinüri	7/351(%2,0)
Son kontrolde AFR yüksekliği	54/351(%15,38)
Kolşisine yanıt	
Tam yanıt	210/351(%59,83)
Kısmi yanıt	120/351(%34,2)
Yanıtız	21/351(%5,98)
Biyolojik ajan kullanımı	19/351(%5,41)

4.3. MEFV Genetik Sonuçları

İncelenen AAA hastalarının MEFV mutasyonları ve allel frekanslarını taradık. Tablo 12’de AAA hastalarının MEFV mutasyonu açısından allel frekansları sunulmuştur.

Tablo 12. AAA hastalarında saptanan mutasyonlar ve allel frekansları

Mutasyon	Hasta sayısı(%)	Allel frekansı(%)
M694V	140(39,88)	29,58
M694I	7(2,00)	1,54
M680I	34(9,68)	6,47
V726A	36(10,25)	6,47
R761H	11(3,13)	1,69
A744S	5(1,42)	0,77
A416T	1(0,28)	0,15
R408Q	4(1,14)	0,62
P369S	8(2,28)	1,23
E336K	4(1,14)	0,62
E167D	1(0,28)	0,15
I641F	1(0,28)	0,30
E148Q	68(19,37)	11,56
R202Q	191(54,42)	38,52

Olgularımızdaki mutasyonlar ve allel frekansları incelendiğinde bölgemizde en sık rastlanan mutasyonun 191 olguda saptanan R202Q mutasyonu olduğu görülmektedir. İkinci sıklıkta rastlanan mutasyon ise 140 hastada saptanan M694V mutasyonudur. 68 hastada saptanan E148Q mutasyonu ise üçüncü sırada yer almaktadır. 351 AAA hastası içinde M694V mutasyonu, 52 si homozigot olmak üzere toplam 140 hastada saptanmıştır. Hastalarımızda tek başına R202Q Homozigot mutasyonu 17 hastada, tek başına R202Q Heterozigot mutasyonu 54 hastada, tek başına E148Q Homozigot mutasyonu 6 hastada, tek başına E148Q Heterozigot mutasyonu ise 25 hastada mevcuttu. 18 AAA hastamızda ise AAA açısından bilinen bir mutasyon saptanmamıştır (Tablo 13 ve Tablo 14).

4.4. MEFV Gen Sonuçlarına Göre AAA Hastalarının Gruplandırılması Ve Demografik ve Klinik Özelliklerinin karşılaştırılması

Çalışmaya alınan toplam 351 hastayı genetik mutasyonlarına göre 2 şekilde gruplandırdık. Birinci grupta M694V mutasyonu içermesine göre, ikinci gruplandırma ise Ekzon10 mutasyonu içermesine göre yapıldı.

İlk gruplamamızda hastaları M694V homozigot, M694V birleşik heterozigot, M694V heterozigot ve diğerleri şeklinde grupladık. Bu gruplamaya göre MEFV mutasyon analizleri Tablo 14 ve Tablo 15'te sunulmuştur. M694V Homozigotları içeren 1. Grupta 52 hasta, M694V birleşik heterozigotları içeren 2. Grupta 74 hasta, M694V heterozigotları içeren 3. Grupta 14 hasta, M694V dışındaki mutasyonların gruplandığı 4. Grupta ise 211 hasta gruplanmıştır.

Tablo 13. AAA hastalarının gruplara göre MEFV mutasyon dağılım tablosu-1

M694V/M694V Homozigot (Grup1)		M694V Comp Heterozigot (Grup2)		M694V Heterozigot /? (Grup3)	
Mutasyonlar	N	Mutasyonlar	N	Mutasyonlar	N
M694V Hom	17	M694V Het/R202Q Het/R761H Het	7	M694V Het/?	14
M694V Hom/R202Q Hom	33	M694V Het/R202Q Het/V726A Het	7		
M694V Hom/R202Q Het	2	M694V Het/R202Q Het/M680I Het	8		
		M694V Het/R202Q Het/M694I Het	1		
		M694V Het/R202Q Het/E148Q Het	2		
		M694V Het/R202Q Het/A416T Het	1		
		M694V Het/R202Q Hom	8		
		M694V Het/R202Q Het	28		
		M694V Het/M680I Het	2		
		M694V Het/V726A Het	3		
		M694V Het/R761H Het	1		
		M694V Het/E148Q Het	6		
TOPLAM	52		74		14

Tablo 14 AAA hastalarının gruplara göre MEFV mutasyon dağılım tablosu-2

Diğerleri (Grup4)	
Mutasyonlar	N
M680I Het/V726A Het/R202Q Het	1
R202Q Hom/R408Q Het/P369S Het	1
R202Q Het/R408Q Het/P369S Het	1
E148Q Het/R408Q Het/P369S Het	1
R202Q Het/E148Q Het/E336K Het	1
M694I Het/E148Q Het	2
M694I Het/R202Q Het	1
M680I Het/V726A Het	2
M680I Het/E148Q Het	4
M680I Het/R202Q Het	1
V726A Het/R202Q Het	2
V726A Het/E148Q Het	2
V726A Het/R761H Het	1
R202Q Het/E148Q Het	14
E148Q Het/E336K Het	2
E148Q Het/A744S Het	1
R408Q Het/P369S Het	1
E148Q Het/P369S Het	1
R202Q Het/E167D Het	1
E148Q Hom/E336K Het	1
M694I Hom	3
M694I Het	2
M680I Hom	8
M680I Het	8
V726A Hom	6
V726A Het	12
R761H Het	3
A744S Het	4
E148Q Hom	6
E148Q Het	25
R202Q Hom	17

Tablo 14'ün devamı

R202Q Het	54
P369S Het	3
I641F Hom	1
Mutasyon yok	18
TOPLAM	211

Mutasyon gruplarına göre demografik hasta verileri ise Tablo 15'te verilmektedir.

Tablo 15. Mutasyon gruplarına göre AAA demografik hasta verileri

Mutasyonlara göre gruplar	M694V/M694V hom	M694V Comp Het	M694V Het	Diğerleri	P değeri
Toplam	52	74	14	211	
Kız/Erkek	24/28	37/37	5/9	97/114	
Hastalığın ortalama başlangıç yaşı	3,73± 3,19	4,87± 3,22	4,14± 3,46	5,44±3,55	0,002
Ortalama tanı yaşı	7,44± 3,97	7,95± 3,88	8,51± 4,33	8,11± 3,62	0,565
Tanı ile hastalığın başlangıcı arası geçen süre	3,72± 3,25	3,07± 2,58	4,37± 4,54	2,67± 2,28	0,277
Tedavi öncesi yıllık atak sayısı	19,87± 14,80	20,58± 14,20	16,57± 9,97	18,11± 13,04	0,493
Tedavi sonrası yıllık atak sayısı	5,04± 7,52	1,72± 4,28	1,86± 3,25	1,76± 3,51	0,001
Ateş	45/52(%86,5)	47/74(%63,5)	12/14(%85,7)	165/211(%78,2)	0,12
Karın ağrısı	43/52(%82,7)	62/74(%83,8)	12/14(%85,7)	188/211(%89,1)	0,502
Artralji	16/52(%30,8)	42/74(%56,8)	7/14(%50,0)	124/211(%58,8)	0,004
Artrit	38/52(%73,1)	16/74(%21,6)	3/14(%21,4)	39/211(%18,5)	0,001
Göğüs ağrısı	9/52(%17,3)	8/74(%10,8)	1/14(%7,1)	15/211(%7,1)	
Bulantı/Kusma	3/52(%5,8)	4/74(%5,4)	0/14(%0,00)	12/211(%5,7)	
Erizipel benzeri eritem	5/52(%9,6)	5/74(%6,8)	0/14(%0,00)	8/211(%3,8)	
Splenomegali	2/52(%3,8)	0/74(%0,0)	1/14(%7,1)	6/211(%2,8)	
Eforla Ekstremitte ağrısı	35/52(%67,3)	28/74(%37,8)	2/14(%14,3)	64/211(%30,3)	0,001
Anne-Baba akrabalığı	27/52(%51,9)	9/74(%12,2)	1/14(%7,1)	64/211(%30,3)	
Ailede AAA öyküsü	27/52(%51,9)	35/74(%47,3)	7/14(%50,0)	64/211(%30,3)	0,004
Apendektomi	6/52(%11,5)	6/74(%8,1)	1/14(%7,1)	16/211(%7,6)	
Tonsillektomi	2/52(%3,8)	7/74(%9,5)	0/14(%0,00)	21/211(%10,0)	
Amiloidoz	1/52(%1,9)	0/74(%0,00)	0/14(%0,00)	1/211(%0,5)	
Proteinüri	0/52(0,00)	3/74(%4,1)	0/14(%0,00)	4/211(%1,9)	
Son kontrolde AFR yüksekliği	23/52(%44,23)	11/74(%14,86)	2/14(%14,28)	18/211(%8,53)	0,001
Kolşisine yanıt					
Tam yanıt	18/52(%34,6)	48/74(%64,9)	8/14(%57,1)	136/211(%64,5)	
Kısmi yanıt	24/52(%46,2)	25/74(%33,8)	5/14(%35,7)	66/211(%31,3)	
Yanıtsız	10/52(%19,2)	1/74(%1,4)	1/14(%7,1)	9/211(%4,3)	
Biyolojik ajan kullanımı	10/52(%19,2)	2/74(%2,70)	0/14(%0,00)	7/211(%3,31)	

İncelenen hastalarda amiloidoz sadece 2 vakada mevcut olup biri M694V Homozigot ve aynı zamanda R202Q Homozigot diğeri ise M680I Heterozigottu. Tablo 15'te belirtildiği üzere M694V Homozigot grupta hastalık başlangıç yaşının diğer gruplara göre daha küçük olduğu (P=0,002), tedavi sonrası atak sayısının diğer gruplara göre daha fazla olduğu (P=0,001), artrit (P=0,001) ve eforla ekstremitte ağrısının (P=0,001) diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Ailede AAA öyküsü ise ilk 3 grupta (M694V mutasyonu içeren gruplar) dörüncü gruba oranla anlamlı derecede yüksek bulundu (P=0,004). Kolşisin tedavisi almakta olan hastaların bakılan son kontrollerindeki AFR yüksekliği M694V

Homozigot grupta diğer gruplara kıyasla istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (P=0,001).

Bahsedilen 4 gruba göre veriler incelendiğinde bazı gruplarda istatistiksel analizin anlamlı sonuçlanabilmesi için gerekli hasta sayısının yetersiz olması nedeniyle bu değişkenler için hastalar M694V Homozigot ve diğerleri şeklinde 2 gruba ayrılmıştır. Bu ikinci grup veriler de Tablo 16’da sunulmuştur.

Tablo 16. AAA hastaları M694V homozigotlar ile diğerleri demografik özellik karşılaştırması

Özellikler	M694V Hom	Diğerleri	Toplam	P Değeri
Bulantı/Kusma	3/52(%5,8)	16/299(%5,4)	19/351(%5,4)	0,902
Göğüs ağrısı	9/52(%17,3)	24/299(%8,0)	33/351(%9,4)	0,034
Erizipel	5/52(%9,6)	13/299(%4,3)	18/351(%5,1)	0,112
Splenomegali	2/52(%3,8)	7/299(%2,3)	9/351(%2,6)	0,526
Amiloidoz	1/52(%1,9)	1/299(%0,3)	2/351(%0,6)	0,160
Apendektomi	6/52(%11,5)	23/299(%7,7)	29/351(%8,3)	0,35
Tonsillektomi	2/52(%3,8)	28/299(%9,4)	30/351(%8,5)	0,19
Ailede AAA öyküsü	27/52(%51,9)	106/299(%35,5)	133/351(%37,9)	0,024
Anne-baba akrabalığı	27/52(%51,9)	74/299(%24,7)	101/351(%28,8)	0,001
Kolşisine yanıt				
Tam yanıt	18/52(%34,6)	192/299(%64,2)	210/351(%59,8)	0,001
Kısmi yanıt	24/52(%46,2)	96/299(%32,1)	120/351(%34,2)	0,001
Yanıtsız	10/52(%19,2)	11/299(%3,7)	21/351(%6,0)	0,001
Biyolojik ajan kullanımı	10/52(%19,2)	8/299(%2,7)	18/351(%5,1)	0,001

Tablo 16’da belirtildiği üzere M694V Homozigot grubun kolşisine tam yanıt oranı diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük görüldü (P=0,001). M694V Homozigot grubun kolşisine yanıtsızlık oranı ve biyolojik ajan ihtiyacı ise diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek görüldü (P=0,001).

İkinci gruplandırılmamızda ise Ekzon10 mutasyonu içerenler ve içermeyenler şeklinde grupladık. Bu gruplamaya göre demografik hasta verileri Tablo 17’de sunulmuştur.

Tablo 17. Ekzon 10 mutasyonu içermesine göre gruplandırılmış demografik hasta verileri

Mutasyonlara göre gruplar	Ekzon10 mutasyonu içerenler	Ekzon10 mutasyonu içermeyenler	Toplam/Ortalama	P değeri
Toplam	203	148	351	
Kız/Erkek	92/111	71/77	163/188	
Hastalığın ortalama başlangıç yaşı	4,55± 3,35	5,65± 3,56	5,02± 3,48	0,003
Ortalama tam yaşı	7,71± 3,86	8,38± 3,58	7,99± 3,75	0,09
Tam ile hastalığın başlangıcı arası geçen süre	3,16± 2,83	2,73± 2,38	2,98± 2,65	0,14
Tedavi öncesi yıllık atak sayısı	19,32± 13,79	18,16± 13,00	18,83± 13,46	0,43

Tablo 17'in devamı

Tedavi sonrası yıllık atak sayısı	2,45± 5,11	1,96± 3,81	2,24± 4,61	0,33
Ateş	151/203(%74,4)	118/148(%79,7)	269/351(%76,6)	0,24
Karın ağrısı	169/203(%83,3)	136/148(%91,9)	305/351(%86,9)	0,18
Artralji	92/203(%45,3)	97/148(%65,5)	189/351(%53,8)	0,001
Artrit	72/203(%35,5)	24/148(%16,2)	96/351(%27,4)	0,001
Göğüs ağrısı	22/203 (%10,8)	11/148 (%7,4)	33/351 (%9,4)	0,78
Bulantı/Kusma	10/203(%4,9)	9/148(%6,1)	19/351(%5,4)	0,64
Erizipel benzeri eritem	13/203(%6,4)	5/148(%3,4)	18/351(%5,1)	0,20
Splenomegali	6/203(%3,0)	3/148(%2,0)	9/351(%2,6)	0,59
Eforla Ekstremitte ağrısı	89/203(%43,8)	40/148(%27,02)	129/351(%36,75)	0,001
Anne-Baba akrabalığı	57/203(%28,1)	44/148(%29,7)	101/351(%28,8)	0,736
Ailede AAA öyküsü	94/203(%46,3)	39/148(%26,4)	133/351(%37,9)	0,36
Apendektomi	17/203(%8,4)	12/148(%8,1)	29/351(%8,3)	0,929
Tonsillektomi	15/203(%7,4)	15/148(%10,1)	30/351(%8,5)	0,36
Amiloidoz	2/203(%1,0)	0/148(%0,00)	2/351(%0,6)	
Proteinüri	6/203(%2,96)	1/148(0,68)	7/351(2,020)	
Son kontrolde AFR yüksekliği	41/199(%20,60)	13/143(%9,09)	54/342(%15,79)	0,001
Kolşisine yanıt				
Tam yanıt	118/203(%58,1)	92/148(%62,2)	210/351(%59,8)	0,61
Kısmi yanıt	71/203(%35,0)	49/148(%33,1)	120/351(%34,2)	0,61
Yanıtız	14/203(%6,9)	7/148(%4,7)	21/351(%6,0)	0,61
Biyolojik ajan kullanımı	17/203(%8,37)	2/148(%1,35)	19(%5,41)	

Tablo 17'de belirtildiği üzere, Ekzon 10'da mutasyon saptanan grubun hastalık başlangıç yaşı diğer gruba oranla belirgin daha düşük saptandı ($P=0,003$). Ekzon 10'da mutasyon saptanan grupta artrit ($P=0,001$) ve eforla ekstremitte ağrısı ($P=0,001$) diğer gruba oranla daha fazla, artralji ($P=0,001$) ise daha az gözlemlendi. Ekzon 10'da mutasyonda saptanan grupta belirgin olarak daha fazla biyolojik ajan ihtiyacı görüldü. Son kontrolde AFR yüksekliği de Ekzon 10'da mutasyon saptanan grupta diğer gruba oranla daha yüksekti ($P=0,001$).

4.5. AAA Hastalarında Eşlik Eden Hastalıklar

AAA genel hasta grubumuzu eşlik eden hastalıklar açısından da taradık. AAA hastalarının bir kısmında (29,9) eşlik eden çeşitli hastalıklar saptandı. En sık görülenleri juvenil idiyopatik artrit (%6,8), astım(%4,8) ve kronik gastrit (%4,6) idi. Henoch-Schönlein purpurası (HSP) (% 1,7) ve Behçet hastalığı ise (% 0,6) oranında görüldü. Tablo 18'de eşlik eden hastalıkların ayrıntılı dökümü ve oranları sunulmuştur.

Tablo 18. AAA hastalarında eşlik eden hastalık ve komplikasyonlar

Eşlik eden hastalık ve komplikasyonlar	N	%
JİA	24	6,8
HSP	6	1,7
Astım	17	4,8
Kronik gastrit	16	4,6
Proteinüri	7	2,0
DEHAB	4	1,1
Allerjik rinit	4	1,1
Amiloidoz	2	0,6
Crohn Hast	2	0,6
Behçet Hast	2	0,6
Uveit	2	0,6
Hipertansiyon	2	0,6
Demir eksikliği anemisi	2	0,6
Vezikoüreteral reflü	2	0,6
Otoimmün hepatit	1	0,3
Otizm	1	0,3
Faktör 7 eksikliği	1	0,3
Kronik ürtiker	1	0,3
Eozinofilik kolit	1	0,3
OHA taşıyıcısı	1	0,3
Ülseratif kolit	1	0,3
Çölyak H.	1	0,3
Diseritropoietik anemi	1	0,3
G6PDH eksikliği	1	0,3
UP darlık	1	0,3
Tekrarlayan invajinasyon	1	0,3
Epilepsi	1	0,3
Toplam	105	29,9

4.6. AAA Hastalarında miRNA Analizi

4.6.1. Çalışılacak miRNA'ların Saptanması

Çalışmamızda hedeflenecek miRNA'ların tespiti için daha önce literatürde bildirilmiş ilişkili gen yolları üzerinden değerlendirme yapılmıştır. Diğer hastalıklar açısından HGMD ve ClinVar veri bankaları aracılığıyla değerlendirilen miRNA'ların ekspresyon değişiklikleri analiz edilerek, otoenflamatuar hastalıklarla özellikle apoptozis ile ilişkisi ortaya konan miRNA'lar çalışılmak üzere seçilmiştir. Apoptozis ilişkili olduğu değerlendirilen ve çalışma kapsamında ekspresyon profillemesi yapılan toplam 33 miRNA aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 19).

Tablo 19. Ekspresyon çalışmasına dahil edilen miRNA'lar

APOPTOSİS İLİŞKİLİ miRNA'LAR		
miR.181b.5p	miR.29b.3p	miR.30d.5p
miR.15b.5p	miR.27a.3p	miR.25.3p
miR.214.3p	miR.365a.3p	miR.15a.5p
miR.23a.3p	miR.181c.5p	miR.29c.3p
miR.24.3p	let.7g.5p	miR.29a.3p
miR.16.5p	miR.146a.5p	miR.30c.5p
miR.26a.5p	miR.30a.5p	miR.101.3p
miR.195.5p	let.7a.5p	miR.145.5p
miR.17.5p	miR.30e.5p	miR.222.3p
miR.26b.5p	miR.181a.5p	miR.30b.5p
miR.106b.5p	let.7c	miR.98.5p

4.6.2. miRNA Analiz Sonuçları

Hasta grupları ile sağlıklı benzer yaş ve cinsiyet dağılımına sahip kontrol grubu karşılaştırması her bir miRNA için tek tek gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırma yapabilmek için öncelikle deney grubu ve kontrol grubu miRNA ekspresyon düzeyi ortalamaları ve standart sapmaları belirlenmiş, tablo 20'de listelenmiştir. Kat değişimi üzerinden Welch t test istatistiği yapılarak p değeri ve düzeltilmiş p değeri tablo 21'de sunulmuştur. Düzeltilmiş p değeri ≥ 0.05 istatistiksel anlamlı olarak kabul edilmektedir. Bunlar üzerinden hasta grubundaki miRNA ifade düzeyindeki kat değişimleri belirlenerek şekil 5'te verilmiştir. İstatistiksel olarak ifade düzeyi değişikliği anlamlı bulunan miRNA'lar şekil 5'te gösterilmiştir.

Tablo 20. miRNA ekspresyon düzeyleri deney ve kontrol grupları ortalamaları ve standart sapmaları

miRNA	Hasta Grubu Ortalama	Kontrol Grubu Ortalama	Hasta Grubu Standart Sapması	Kontrol Grubu Standart Sapması
miR.181b.5p	1,431878842	0,431005926	1,406936146	0,387142097
miR.15b.5p	2,505719823	5,763686151	2,756446182	2,679265548
miR.214.3p	1,624965384	0,687310364	1,471080781	0,769112103
miR.23a.3p	7,296397057	16,29696928	7,520174266	8,290379327
miR.24.3p	2,820635092	6,359265452	2,587280248	3,518675994
miR.16.5p	9,144306	37,75517806	10,55868838	29,53570489
miR.26a.5p	3,803392354	7,318887811	4,809141401	3,405069913
miR.195.5p	8,278925883	34,01238738	9,207957462	27,17535826
miR.17.5p	2,71577954	8,53177966	2,574858069	6,405065418
miR.26b.5p	3,393535437	6,320009277	4,07972275	3,081056694
miR.106b.5p	2,278863539	5,823551555	2,268580364	4,024814252
miR.29b.3p	1,721117664	0,804013125	1,380942008	0,979229392
miR.27a.3p	2,640732227	5,584127469	2,691183279	3,405049256
miR.365a.3p	1,697948731	0,823197852	1,396607764	0,984091021
miR.181c.5p	1,678538607	0,76152324	1,450912264	1,061470726
let.7g.5p	1,791566519	2,87943886	1,725282468	1,346414303

Tablo 20'in devamı

miR.146a.5p	2,340769502	3,998158235	1,871386818	2,224608591
miR.30a.5p	2,156427607	5,782718688	1,876390195	5,052050172
let.7a.5p	1,960788027	3,609899713	1,700248383	2,325197719
miR.30e.5p	1,74762849	4,214311415	1,604771362	3,660676523
miR.181a.5p	1,712714209	0,983134397	1,412064844	1,064469582
let.7c	1,364709283	2,607467689	1,275928234	1,945679503
miR.30d.5p	1,674037443	3,719500793	1,585912778	3,288821795
miR.25.3p	12,26422992	36,52650272	12,17584766	40,95939174
miR.15a.5p	1,653742697	1,015734762	1,369917121	1,092379629
miR.29c.3p	2,00420245	3,045460922	1,669299022	2,284788001
miR.29a.3p	1,882163916	2,711999179	1,625350063	2,132301776
miR.30c.5p	1,552359736	1,914966131	1,415301126	1,094190671
miR.101.3p	1,608594013	2,138192365	1,52259418	1,938317814
miR.145.5p	1,362717182	1,619799289	1,292125408	1,118203458
miR.222.3p	1,402452334	1,648914469	1,343261082	1,239149042
miR.30b.5p	1,536080913	1,706745693	1,370266268	1,052437204
miR.98.5p	1,393615112	1,413909778	1,340656623	0,909479871

Kat değişimi üzerinden Welch t test istatistiği yapılarak p değeri ve düzeltilmiş p değeri Tablo 21'de sunulmuştur. Düzeltilmiş p değeri ≥ 0.05 istatistiksel anlamlı olarak kabul edilmiştir. Bunlar üzerinden hasta grubundaki miRNA ifade düzeyindeki kat değişimleri belirlenerek Tablo 21'de verilmiştir. İstatistiksel olarak ifade düzeyi değişikliği anlamlı bulunan miRNA'lar Şekil 7'de gösterilmiştir.

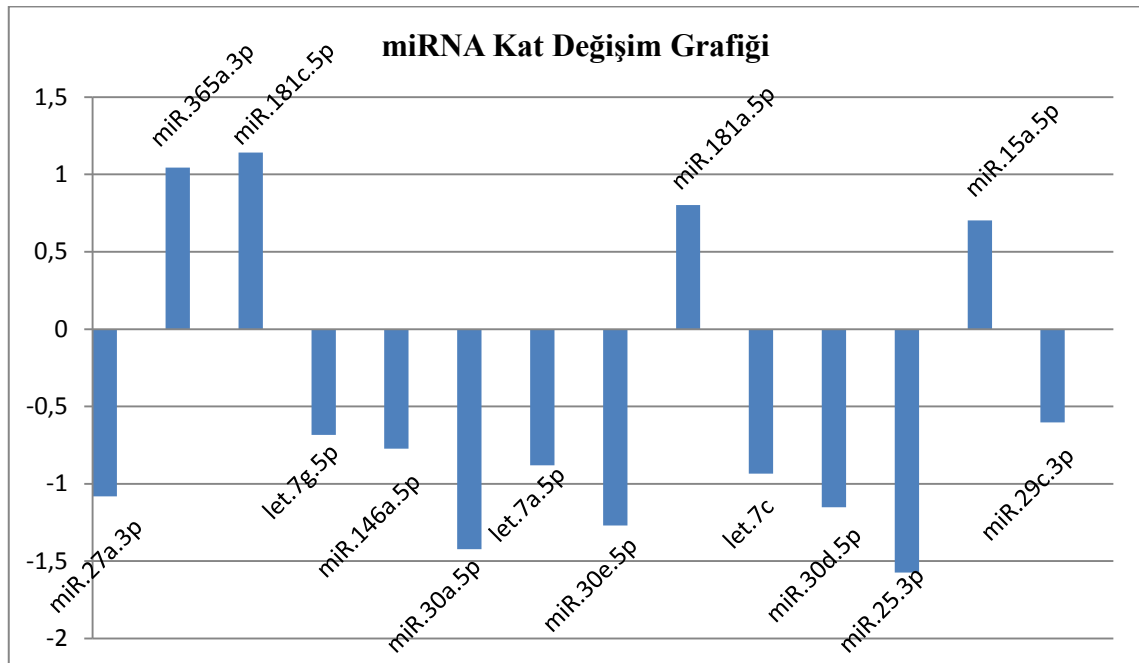
Tablo 21. miRNA ifade düzeyindeki kat değişimleri (miRNA ekspresyon düzeyi değişimleri kat değişimi olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel analiz değerleri ile birlikte listelenmiştir. Pozitif değerler hasta grubunun miRNA ifade düzeyinin kontrol grubuna göre arttığını (ekspresyon artışı), negatif değerler ise azaldığını (ekspresyonda azalma) ifade etmektedir. Düzeltilmiş p değeri ≥ 0.05 istatistiksel anlamlı olarak kabul edilmiştir.)

miRNA	Kat Değişim	Welch t test İstatistiği	Welch t Test p Değeri	Welch t Test Düzeltilmiş p Değeri
miR.181b.5p	1,732129814	65,91079752	8,75E-14	6,82E-12
miR.15b.5p	-1,20176667	39,11775017	1,88E-07	5,05E-06
miR.214.3p	1,241375367	28,9095609	8,91E-07	1,39E-05
miR.23a.3p	-1,159347548	32,23394487	1,52E-06	1,75E-05
miR.24.3p	-1,172840096	28,8232979	5,06E-06	3,95E-05
miR.16.5p	-2,045728934	28,49791975	7,95E-06	4,78E-05
miR.26a.5p	-0,944337658	24,96182597	7,05E-06	4,78E-05
miR.195.5p	-2,038544767	27,2891129	1,12E-05	6,23E-05
miR.17.5p	-1,651480337	24,90685717	2,11E-05	7,85E-05
miR.26b.5p	-0,897137598	21,77176212	2,42E-05	7,85E-05
miR.106b.5p	-1,353584727	22,86601126	3,47E-05	9,66E-05
miR.29b.3p	1,098054773	20,55615924	3,47E-05	9,66E-05
miR.27a.3p	-1,080393856	21,03165378	5,20E-05	0,000122816
miR.365a.3p	1,044481775	18,45966279	7,63E-05	0,000165338
miR.181c.5p	1,140245751	17,75303433	0,000104429	0,000214355
let.7g.5p	-0,684566079	15,97924216	0,00022177	0,00040228
miR.146a.5p	-0,772352693	15,43423199	0,000357198	0,000605684

Tablo 21'in devamı

miR.30a.5p	-1,423104637	15,62195701	0,000410746	0,000681663
let.7a.5p	-0,880525179	14,34826301	0,000567178	0,000902855
miR.30e.5p	-1,269898396	13,64980499	0,000821895	0,001257016
miR.181a.5p	0,800823881	11,32744781	0,001492624	0,002238937
let.7c	-0,934055721	11,82200216	0,001552903	0,002285404
miR.30d.5p	-1,151777208	11,55515298	0,001812528	0,002618096
miR.25.3p	-1,574486979	10,7234149	0,002612959	0,003639478
miR.15a.5p	0,703211064	8,424335035	0,005630168	0,007704441
miR.29c.3p	-0,603632346	5,925191238	0,020108573	0,026141144
miR.29a.3p	-0,526964465	4,290526592	0,045576333	0,05642784
miR.30c.5p	-0,302855958	2,677412255	0,108329397	0,129995277
miR.101.3p	-0,410591397	2,103552982	0,155555035	0,181093921
miR.145.5p	-0,249328882	1,346708555	0,252100243	0,289173808
miR.222.3p	-0,233564829	1,029922223	0,315947953	0,342276949
miR.30b.5p	-0,151993899	0,639294468	0,427889044	0,451018182
miR.98.5p	-0,020857891	0,011411565	0,915324971	0,915324971

miRNA analizleri sonucunda Tablo 21'de belirtildiği üzere, 14 miRNA'nın ekspresyon profili istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulundu. Bunlardan 4 miRNA ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre artmış (miR.365a.3p, miR.181c.5p, miR.181a.5p, miR.15a.5p), 10 miRNA (miR.27a.3p, let.7g.5p, miR.146a.5p, miR.30a.5p, let.7a.5p, miR.30e.5p, let.7c, miR.30d.5p, miR.25.3p, miR.29c.3p) ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuna göre düşük saptandı. Bu anlamlı bulunan miRNA'lar bir grafik olarak Şekil 7'de sunulmuştur.



Şekil 7. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan miRNA'lara ait kat değişimleri (Negatif değerler ekspresyonda azalmayı ifade etmektedir).

5. TARTIŞMA

AAA klinik bulguları ve saptanan mutasyonlar toplumlar arası farklılıklar göstermektedir.^{53,67,171} Bu çalışmadaki tüm hastalar Çukurova Üniversitesi Çocuk Romatoloji Polikliniği tarafından takip edilen hastalardı. Ancak çevre illerden gelen çok sayıda hastanın yanısıra Suriye kökenli hastalarımız da bulunmaktaydı. Bu da fenotipik ve genotipik çeşitlilikle gözlemlenmiş olabilir.

Çalışmaya alınan AAA hastalarının demografik özelliklerini ülkemizde yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırdığımızda hastalık ortalama başlangıç yaşı ve ortalama tanı yaşı diğer çalışmalarla benzer bulundu (Tablo 22).¹⁷²⁻¹⁷⁵ Ancak çalışmamızdaki tanı ile hastalığın başlangıcı arası geçen süre diğer çalışmalara oranla uzamış bulundu. Bu da bölgemizin sosyoekonomik özellikleri çerçevesinde, hastalarımızın sağlık hizmetine ulaşımında gecikmeden kaynaklanabilir. Anne-Baba akrabalığı Ece ve ark.¹⁷⁴'nın çalışması ve İnal ve ark.¹⁷²'nin çalışmalarında daha yüksek seviyelerde görülmüşken, bizim çalışmamızda diğer iki çalışmayla uyumlu şekilde % 30'ların altında görüldü. Güneydoğu bölgemizde akraba evliliklerine Türkiye'nin diğer coğrafi bölgelerine oranla daha yüksek oranda rastlanmaktadır. Bu da Ece ve ark.¹⁷⁴'nin çalışmasındaki bu yüksek oranı açıklayabilir. Ailede AAA öyküsü Öztürk ve ark.¹⁷³'nin çalışmasında bizim verilerimize göre daha düşük, İnal ve ark.¹⁷²'nin çalışmasında bizimkine benzer, Barut ve ark.¹⁷⁵ ile Ece ve ark.¹⁷⁴'nin çalışmalarında ise bizim verilerimizden daha yüksek oranlarda bulundu. Apendektomi açısından bizim verilerimiz ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi. Amiloidoz ise 2008 ve 2011 yılındaki yayınlara göre (% 1,6 ve % 1,9), 2017 yılındaki yayın ve bizim çalışmamızda (% 0,3 ve % 0,6) daha düşük oranlarda görüldü. Bu kadar az hasta sayısındaki oranlar toplumdaki amiloidoz oranları için kriter olarak alınmamalıdır. Ancak yine de bu oranlardaki düşüş pediatrik AAA hastalarının takibindeki ilerleme ve kolşisine dirençli hastalarda kullanılmaya başlanan biyolojik ajanlara bağlı olabilir (Tablo 22).

Tablo 22. AAA hastaları genel demografik özelliklerinin önceki yayınlarla karşılaştırması

	Toplam Hasta Sayısı	Kız/Erkek	Hastalık ortalama başlangıç yaşı	Ortalama tam yaşı	Tanı ile hastalığın başlangıcı arası geçen süre(yıl)	Tedavi öncesi yıllık ort atak sayısı	Tedavi sonrası yıllık atak sayısı	Anne-Baba akrabalığı	Ailede AAA öyküsü	Apendektomi	Amiloidoz
Çalışmamızdaki verilerimiz	351	163/188	5,0±3,5	8,0±3,7	3,0±2,6	18,8±13,5	2,2±4,6	101 (28,8)	133 (37,9)	29 (8,3)	2 (0,6)
Barut ve ark. ¹⁷¹ 2017	708	346/362	4.8 ± 3.4	7.3 ± 3.8				207 (29,2)	370 (52,3)		2 (0,3)
Ece ve ark. ¹⁷⁰ 2013	147	65/ 82	5.4 ± 3.2	7.6 ± 3.0	2.1 ±1.6			64 (43,5)	86 (58,5)		
Öztürk ve ark. ¹⁶⁹ 2011	408	228/180	5.3±3.4	8.4±3.5	2.0	8	0	107 (26,2)	117 (28,7)	28 (6,9)	8 (1,9)
İnal ve ark. ¹⁶⁸ 2008	124	66/ 58	5.6 ± 3.6	8.7 ± 3.6	2	12	4	50 (40,3)	49 (39,5)	14(1,3)	2 (1,6)

Çalışmaya alınan AAA hastalarımızın semptom ve bulguları ile kolşisin yanıtlarını da yine yukarda belirtilen yayınlarla karşılaştırdık. Karşılaştırılan yayınlar içinde ateş en düşük oranda Öztürk ve ark.¹⁷³,nin yayınlarında % 81,9 oranında pozitif bulunmuştu. Bizim çalışmamızda ise % 76,6 oranında ateş yüksekliği saptadık (Tablo 23). Bu konuda yapılan çeşitli yayınlarda AAA’da ateş semptomu ile ilgili olarak tüm ırklarda AAA semptomlarından en sık saptananı olmasına rağmen bir mutant aleli olan AAA hastalarında daha az görüldüğü bildirilmiştir.^{54,67} Bizim çalışmamızda da hem hastalığın daha şiddetli seyrettiği öngörülen M694V allel frekansımız hem de M694V homozigot hasta sayımız diğer çalışmalara oranla daha düşüktü. Bu da çalışmamızda ateş semptomunun diğer çalışmalara oranla daha düşük saptanmasına sebep olmuş olabilir.

Karın ağrısı hastalarımızın % 86,9’unda mevcuttu. Bu oran karşılaştırdığımız yayınların ikisi ile benzer, ikisinden ise düşüktü. Bu bölgesel farklılıklara ve çalışmamızdaki M694V allel frekansı düşüklüğüne bağlı olabilir. Göğüs ağrısı ve erizipel benzeri eritem bizim çalışmamızda sırasıyla % 9,4 ve % 5,1 oranlarında saptandı. Bu oranlar İnal ve ark.¹⁷²,nin bulguları ile benzerlik gösterirken (% 13,7 ve % 4) diğer yayınlarda daha yüksek oranlarda pozitiflik saptanmıştı. Bölgesel farklılıklar bu sonuca neden olmuş olabilir (Tablo 23).

Hastalarımızın % 59,8’inde kolşisin tedavisine tam yanıt aldık. Karşılaştırdığımız 2008, 2013 ve 2017 tarihli yayınlarda sırasıyla % 16,1 , % 21,8 ve % 79 oranlarında kolşisine tam yanıt alınmıştı. Zamanla pediatrik romatoloji polikliniklerinin

yaygınlaşması ile AAA hastalarının takibi daha sıkı yapılmaya başlanmıştır. Buna rağmen bizim çalışmamızda bile 29 (% 8,3) hastamızın kolşisin tedavisine uyum göstermediği saptanmıştır. Son zamanlarda kolşisin tedavisine tam yanıt oranının artışı hastaların daha sıkı takibi ve ilaca uyumun daha yakın takibi sonucunda gelişmiş olabilir. Hastalarımızın 21'inde (% 5,9) ise kolşisin tedavisine yanıt alınmadığını gözlemledik. Bu oran diğer çalışmalardaki oranlar ile benzerdi (% 6,5-% 2,7 ve % 6,6) (Tablo 23).

Tablo 23. AAA hastalarının semptom ve bulgularının önceki yayınlarla karşılaştırması

	Toplam Hasta Sayısı	Ateş	Karın ağrısı	Artralji	Artrit	Göğüs ağrısı	Erizipel benzeri eritem	Kolşisine tam yanıt	Kolşisine kısmi yanıt	Kolşisine yantısız
Çalışmamızdaki verilerimiz	351	269 (76,6)	305 (86,9)	189 (53,8)	96 (27,4)	33 (9,4)	18 (5,1)	210 (59,8)	120 (34,2)	21 (5,9)
Barut ve ark. ¹⁷¹ 2017	708	629 (88,8)	634 (89,2)		288 (40,7)	122 (17,2)	213 (30,1)	559 (79)	102 (14,4)	47 (6,6)
Ece ve ark. ¹⁷⁰ 2013	147	144 (97,9)	145 (98,6)	88 (59,9)	30 (20,4)	26 (17,7)	23 (15,6)	32 (21,8)	111 (75,5)	4 (2,7)
Öztürk ve ark. ¹⁶⁹ 2011	408	334 (81,9)	352 (86,3)			150 (36,8)	69 (16,9)			
İnal ve ark. ¹⁶⁸ 2008	124	118 (95,2)	117 (94,4)	92 (74,2)	42 (33,9)	17 (13,7)	5 (4)	20 (16,1)	96 (77,4)	8 (6,5)

Çalışmaya alınan AAA hastalarımızdaki eşlik eden diğer romatolojik hastalıkları daha önceki yayınlarla karşılaştırdık. Bizim hasta grubumuzda 24 hasta (% 6,8) JİA tanısı almıştı. Bu oran daha önceki yayınlarda da benzerdi (% 2 ve % 8,1). AAA hastalarımızın 6'sı (% 1,7) HSP tanısı almıştı. Daha önceki yayınlarda da eşlik eden HSP hastalığı oranı % 1,1 ile % 5,6 arasında görülmüştü. Behçet hastalığına ise sadece 2 hastamızda rastladık (% 0,6). Daha önceki yayınlarda da eşlik eden Behçet hastalığı oranı % 0,2 ile % 0,4 arasında görülmüştü. Türk AAA çalışma grubunun 2005 tarihli geniş çaplı çalışmasında da,³⁴ 2468 AAA hastasında sadece 14 hastada (% 0,5) Behçet hastalığı saptanmıştı. Bizim bulgularımız da benzer şekildeydi (Tablo 24).

Tablo 24. AAA hastalarında eşlik eden romatolojik hastalıkların diğer yayınlarla karşılaştırması

Eşlik eden romatolojik hastalıklar	Çalışmamızdaki verilerimiz (Çukurova Üniv.Ped 2018)	Barut ve ark. ¹⁷⁵ İstanbul Üniv. Ped 2017	Öztürk ve ark. ¹⁷³ Tepecik EAH Ped 2011	İnal ve ark. ¹⁷² Çukurova Üniv .Ped 2008
JİA	24(6,8)	14(2,0)	33(8.1)	6 (4.8)
HSP	6(1,7)	8(1.1)	9(2.2).	7(5.6)
Behçet Hast	2(0,6)	3(0.4)	1(0,2)	-

Hastalarımızın MEFV geni açısından mutasyon tarama sonuçlarını da yine yukarıda belirtilen yayınlarla karşılaştırdık. Bu yayınlara ilave olarak Akar ve arkadaşlarının,¹⁷⁶ Çoker ve arkadaşlarının¹⁷⁷ yayınlarını, ve AAA çalışma grubunun 2005 tarihli ülke çapındaki çalışma³⁴ sonuçlarını da bu karşılaştırmaya dahil ettik. Tüm bu yayınlar incelendi ve MEFV geni açısından mutasyon tarama sonuçları karşılaştırıldı. Ancak Barut ve arkadaşlarının yayınları¹⁷⁵ dışındaki çalışmaların genetik tarama yöntemlerinin R202Q mutasyonunu içermediği görüldü. Ece ve arkadaşlarının¹⁷⁴ çalışmasında ise sadece en sık görülen 6 mutasyon çalışılmıştı (Tablo 25). Mutasyon saptanamayan hasta sayımız 18 (% 5,1) idi. Daha önceki çalışmalarda bu oranın % 15'lere kadar çıktığı gözlemlendi. Bu durumun mutasyon çalışma tekniğindeki gelişme ve farklılıklara bağlı olduğunu değerlendirdik (Tablo 25).

R202Q varyasyonuna Türk toplumunda çok sık rastlanmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmaları tarihsel sırayla inceledik. R202Q varyasyonu daha önce bir polimorfizm olarak bildirilmiştir.¹⁷⁸ Ancak her ne kadar R202Q bir polimorfizm olarak kabul edilse de Ritis ve arkadaşları¹⁷⁹ 2003 yılındaki çalışmalarında, R202Q homozigotluğunun AAA hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Giaglis ve arkadaşlarının 2007 yılındaki daha geniş çaplı çalışmasında¹⁸⁰ ise R202Q polimorfizmi, AAA hastalarının allellerinin 76/304'ünde (% 25.0) ve sağlıklı kontrollerin allellerinin 49/280'inde (% 17.5) saptandı. R202Q homozigotluğu, AAA hastalarının % 9.2 (14/152)'sinde ve sağlıklı kontrollerin % 0.7(1/140)'sinde saptandı. Bu çalışma sonuçları incelendiğinde, R202Q allel frekansı her ne kadar AAA hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuşsa da aradaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Ancak bu çalışma da Ritis ve arkadaşlarının¹⁷⁹ verilerindeki gibi R202Q homozigotluğunun AAA hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu yinelemiştir.¹⁸⁰

Yiğit ve arkadaşları ise 2012 yılında 191 AAA hastası ve 150 sağlıklı kontrol ile R202Q polimorfizmi konusundaki çalışmalarını yayınladılar.¹⁸¹ Bu çalışmada R202Q polimorfizminin sıklığı, AAA hastalarında % 59.6 ve sağlıklı kontrollerde % 44.7 idi. R202Q polimorfizminin sıklığı her ne kadar AAA hastalarında kontrol grubuna göre yüksek saptanmışsa da aradaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. R202Q'nun homozigotluğu, AAA hastaları (% 14.7) ve sağlıklı kontroller (% 2.7) arasında anlamlı olarak farklıydı. Bu veriler yukarıda bahsi geçen yayınlardaki^{179,180} gibi, R202Q polimorfizminin homozigot formda hastalıkla ilişkisini desteklemekteydi.¹⁸¹

Bu çalışma sonucunda Yiğit ve arkadaşları Türk popülasyonunda çok yüksek oranda gözlenen MEFV geni R202Q polimorfizmi ve AAA arasında yüksek bir ilişki olduğunu gösterdiler. Sonuç olarak da R202Q polimorfizminin, AAA hastalarının rutin moleküler tanısına dahil edilmesini önermişlerdir.¹⁸¹

Çomak ve arkadaşları da 2013 yılındaki 225 hastalık yayınları¹⁸² ile R202Q polimorfizminin inflamatuvar bir fenotip ile ilişkili olduğunu ve AAA için klinik önemi olduğunu bildirmişlerdir.

AAA klasik olarak otozomal resesif bir bozukluk olarak kabul edilirken, Çomak ve arkadaşları heterozigot R202Q polimorfizmi olan bazı hastaların tipik AAA atakları olduğunu saptadılar. Heterozigot R202Q polimorfizmi olan çocukların, AAA ile uyumlu klinik bulguları olduğunu, klinik bulgular ve proteinüri varlığı açısından yakından takip edilmelerini, kolşisin tedavisi gerekebileceğini önerdiler. MEFV genindeki R202Q değişiminin bir polimorfizmden ziyade bir mutasyon olarak değerlendirilmesini önermişlerdir.¹⁸²

R202Q polimorfizmi, hala tanımlanmamış bazı genetik ve epigenetik koşullar altında hastalık fenotipini etkileyebilir. Heterozigot formda bile zaman zaman hastalık fenotipi ortaya çıkmasına sebep olabilir. Bununla birlikte, R202Q ve klinik bulgular ve amiloidoz ilişkisinin araştırılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.¹⁸²

Bu çalışmalar ışığında biz de AAA hastalarımızda saptanan MEFV genindeki R202Q varyasyonunu genetik istatistiklerinde değerlendirdik.

Bizim çalışmamızda allel frekans oranı en yüksek olarak R202Q mutasyonu gözlemlendi. Ancak karşılaştırdığımız çalışmalardan biri hariç R202Q mutasyonu çalışılmamıştı. Yiğit ve arkadaşlarının çalışmasında¹⁸¹ ise R202Q sıklığı % 59,6 olarak saptanmıştı. Komşu Yunan popülasyonunda, Giaglis ve arkadaşlarının 2007 yılındaki

çalışmasında¹⁸⁰ ise AAA hastalarında R202Q allel frekansı % 25.0 saptanmıştı. Bizim çalışmamızda da AAA hasta grubumuzda R202Q allel frekansı bu çalışmalara benzer şekilde % 38,5 olarak görüldü (Tablo 25).

Çalışmamızda allel frekansı oranı en yüksek saptanan ikinci mutasyon %29,6 oranıyla M694V mutasyonuydu. M694V allel frekans oranları diğer çalışmalarda %26 ile %70 arasında değişmekteydi. AAA çalışma grubunun 2005 yılındaki ülke çapındaki çalışmasında ise M694V allel frekansı %51,4 görülmüştü. M694V Homozigot mutasyon ise 52 hastamızda (% 14,8) görüldü. Bu oran diğer çalışmalarda % 10,2 ile % 31,5 arasında değişmekteydi. AAA çalışma grubunun ülke çapındaki çalışmasında da bu oran % 17,5 saptanmıştı. Bizim çalışmamızda M694V allel frekansındaki oransal olarak düşüklük toplumda ve AAA hastalarında çok yüksek oranda bulunan R202Q mutasyonunu da genetik istatistiklerine dahil etmemizden kaynaklanabilir. Genetik yöntemin getirdiği avantaj ile mutasyon saptanamayan hasta oranındaki azalma da bu sonuca katkıda bulunmuş olabilir (Tablo 25).

Çalışmamızda saptanan allel frekansı oranı en yüksek üçüncü mutasyon %11,6 oranıyla E148Q mutasyonuydu. E148Q allel frekansı oranları diğer çalışmalarda % 5,4 ile % 30,7 arasında değişmekteydi. Bizim karşılaştırdığımız çalışmalardan E148Q mutasyonunun çalışıldığı en yüksek hasta sayılı çalışma Çoker ve arkadaşlarının çalışmasıydı. Çoker ve arkadaşlarının¹⁷⁷ çalışmasında E148Q mutasyonu allel frekansı % 16,3 bulunmuştu. Bizim çalışmamızdaki E148Q allel frekansındaki oransal olarak düşüklük R202Q mutasyonunun çalışmaya dahil edilmesi ve coğrafi farklılıklara bağlı olabilir (Tablo 25).

Çalışmamızda saptanan allel frekansı oranı en yüksek dördüncü mutasyon % 6,5 oranıyla V726A mutasyonuydu. V726A allel frekansı oranları diğer çalışmalarda % 3,6 ile % 11,4 arasında değişmekteydi. AAA çalışma grubunun 2005 yılındaki ülke çapındaki çalışmasında ise V726A allel frekansı % 8,6 görülmüştü. Bizim çalışmamızda saptanan V726A allel frekansı da daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermekteydi (Tablo 25).

Çalışmamızda saptanan allel frekansı oranı en yüksek beşinci mutasyon % 6,5 oranıyla M680I mutasyonuydu. M680I allel frekansı oranları diğer çalışmalarda % 10,2 ile % 16,2 arasında değişmekteydi. AAA çalışma grubunun 2005 yılındaki ülke çapındaki çalışmasında ise M680I allel frekansı % 14,4 görülmüştü. M680I allel

frekansındaki oransal düşüklük coğrafi farklılıklar, R202Q mutasyonunun çalışmaya dahil edilmesi ve hasta popülasyonuna Suriye kökenli hastaların eklenmesine bağlı olabilir (Tablo 25).

Tablo 25. AAA hastalarında MEFV mutasyon analizi ve allel frekansları oranı

	Toplam Hasta Sayısı	Genetik Çalışılan Hasta Sayısı	M694V Homozigot hasta sayısı	Mutasyon negatif hasta sayısı / Yüzde	M694V	M694I	M680I	V726A	R761H	A744S	P369S	E148Q	R202Q	K695R
					Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı	Hasta Sayısı / Allel Frekansı
Çalışmamızdaki verilerimiz	351	351	52 (14,8)	18 (5,1)	140 (29,6)	7 (1,5)	34 (6,5)	36 (6,5)	11 (1,7)	5 (0,8)	8 (1,2)	68 (11,6)	191 (38,5)	
Barut ve ark.¹⁷⁵ 2017	708	617	154 (24,9)	49 (6,9)	381 (64,7)	2 (0,5)	91 (12,8)	27 (3,6)	14 (2,1)		6 (0,7)	53 (7,5)	49 (7,0)	5 (0,6)
Ece ve ark.¹⁷⁴ 2013	147	147	15 (10,2)		50 (26)		25 (13)	20 (10,5)	26 (13,5)		12 (6,3)	59 (30,7)		
Akar ve ark.¹⁷⁶ 2012	587	436	91 (20,9)		(43,9)		(16,2)	(9,9)						
Öztürk ve ark.¹⁷³ 2011	408	408	89 (21,8)	39 (9,6)	212 (51,4)	3 (0,5)	57 (10,8)	59 (11,1)	8 (1,4)	8 (1,4)	31 (5,3)	90 (16,7)		9 (1,5)
Çoker ve ark.¹⁷⁷ 2011	883	883	121 (13,7)		(48,6)	(1,1)	(13,9)	(9,7)	(4,4)	(1,2)	(2,6)	(16,3)		(1,5)
İnal ve ark.¹⁷² 2008	124	124	39 (31,5)	19 (15,3)	78 (70)		17 (10,2)	19 (11,4)	1 (0,6)	2 (1,2)	2 (1,2)	8 (5,4)		
Tunca ve ark.³⁴ 2005	283	109	306 (17,5)		(51,4)		(14,4)	(8,6)						

AAA hastalarında miRNA konusu birkaç çalışmada araştırılmıştır. Latsuidis ve arkadaşları 2017 yılında yayınlanan dokuz hasta ile yaptıkları çalışmalarında, AAA hastalarında, RhoGTPaz ailesinden olan Rheb genini hedef alan miR-4520a'nın belirgin şekilde azalmış görüldüğünü ve bunun AAA hastalarında inflamasyon ve IL - 1 β aktivasyonu ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.¹⁸³

Wada ve arkadaşları da yine 2017 yılında yayınlanan 24 hasta içeren çalışmalarında da, AAA hastalarının atak dışı dönemde dolaşımdaki miRNA'larının

ekspresyon paternlerinin MEFV mutasyonlarına dayanan AAA alt grupları arasında ve kontrol grubu arasında farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Ancak AAA alt gruplarını sınıflandırma yeteneği olan belirli bir miRNA bulamamışlardır. Fakat ekzon 10 mutasyonu içeren grupta miR-320'nin diğer gruplara kıyasla daha yüksek oranda ifade edildiğine dikkat çekmişlerdir.¹⁸⁴ Çalışmamızın tasarımı gereği sadece apoptozis ilişkili olabilecek miRNA ekspresyonu düzeyleri incelenmiş olup, bahsi geçen çalışma ile ortak bir miRNA bakılmamıştır.

Akkaya-Ulum ve arkadaşlarının bu konuda 2017 yılında yaptıkları çalışmada AAA hastaları M694V mutasyonuna göre gruplanmıştır. 6 M694V Homozigot hasta, 6 M694V Heterozigot hasta, 6 M694V Heterozigot sağlıklı taşıyıcı ve 6 MEFV mutasyonu negatif sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, gruplar arasında 14 miRNA'nın ekspresyon seviyelerinde değişkenlik saptanmış. Bunlardan M694V homozigot hastalarda, miR-20a-5p, miR-29b, miR-19b, miR-30e, miR-197-3p, miR-1308 anlamlı saptanırken, heterozigot hastalar (M694V/-) ve yine heterozigot mutasyonlu sağlıklı bireylerde (M694V/-), let-7d, miR-1226, miR-125a-5p, miR-574-3p, miR-197, miR-4298, miR-941 ve miR-1826 ekspresyon seviyeleri kontrollere göre anlamlı olarak farklı bulunmuş.¹⁸⁵ M694V Homozigot hastalarda, MiR-20a-5p ekspresyonu belirgin olarak artmışken, miR-197-3p ekspresyonunun azaldığını gözlemişler. Heterozigot hasta grubunda ise let-7d-3p ve miR 574-3p ekspresyonunu yüksek saptamışlar.¹⁸⁵

Bilgilerimize göre, Akkaya-Ulum ve arkadaşlarının çalışmaları¹⁸⁵ ile bizim çalışmamızda ortak olarak bakılmış olan 2 miRNA mevcuttu. Bunlar miR-30e ve miR-29b idi. Bunlar arasında sadece miR-30e bizim çalışmamızda da benzer şekilde AAA hastalarında ekspresyon düzeyi anlamlı olarak farklı saptanmıştır. Ancak ilgili çalışma ile bizim çalışmamız arasında hastaların almakta olduğu tedaviler ve genotip durumları arasında belirgin farklılıklar mevcuttu. Tüm hastalar M694V mutasyonu taşımaktaydı. Bunun yanı sıra M694V Homozigot hasta grubundaki 6 hastadan 5'i biyolojik ajanlarla tedavi altındaydı.

Amarilyo ve arkadaşlarının M694V homozigot 10 AAA hastası ve 10 sağlıklı kontrol içeren çalışmalarında; AAA hastalarından alınan örneklerde yedi miRNA, sağlıklı kontrollere kıyasla ekspresyonda anlamlı farklılıklar göstermiş olup; Dört miRNA ekspresyonu artmış (miR-144-3p, miR-21-5p, miR - 4454 ve miR-451a) ve

üçü azalmıştır (miR -107, let- 7d - 5p ve miR-148b-3p).¹⁸⁶ Bizim çalışmamızda, bu miRNA'lar incelenmemiştir. Ayrıca bu çalışma, bizim çalışmamızdan farklı olarak sadece M694V homozigot erişkin hastaları içermektedir. Çalışmamızda anlamlı saptanan miRNA ekspresyon düzeylerinin genotipi farklı olan bireylerde hastalık patogeneze katkısı olabileceği düşünüldüğünden, bu çalışmada anlamlı saptanmamasının nedeni benzer genotipteki hastaları içermesi olabilir.

Hortu ve arkadaşlarının 2017 yılında yayınlanan çalışmalarında ise 51 AAA hastası ve 49 sağlıklı birey otoenflamatuvar hastalıklarla ilişkili olduğu değerlendirilen 15 miRNA yönünden incelenmiştir. Hastaların 16'sı M694V Homozigot, 21'i M694V Heterozigot genotipinde olup, 20'sine henüz kolşisin başlanmamış ve alınan kan örneklerinin 14'ü akut AAA atağı esnasında alınmış. Hasta grubunda 11 miRNA'nın ekspresyon seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur (miR-125a, miR-132, miR-146a, miR-155, miR-15a, miR-16, miR-181a, miR-21, miR-223, miR-26a ve miR-34a).¹⁸⁷ Atak sırasında alınan AAA hastalarının kan örnekleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise 4 miRNA'nın (miR-132, miR-15a, miR-21, miR-34a) ekspresyon seviyeleri anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Ayrıca, atak dışındaki hastalarda ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 9 miRNA'nın (miR-132, miR-146a, miR-15a, miR-16, miR-181a, miR-21, miR-223, miR-26a, miR-34a) ekspresyon seviyeleri anlamlı olarak düşük görülmüştür.¹⁸⁷ Bizim çalışmamız ve Hortu ve arkadaşlarının çalışmalarında ortak olarak bakılan 5 miRNA (miR-146a, miR-15a, miR-181a, miR-16, miR-26a) içerisinde üçünün (miR-146a, miR-15a, miR-181a) kontrollere göre ekspresyon farklılıkları gösterdiği görüldü. Ancak Hortu ve arkadaşlarının çalışmasında bu 3 miRNA ekspresyonu düşük saptanmışken bizim çalışmamızda miR-146a düşük, miR-15a ve miR-181a yüksek saptandı. Bu farklılıklar hastaların kolşisin tedavisi altında olup olmaması, kan örneklerinin atak esnasında alınıp alınmaması, M694V allel frekansındaki farklılıklara bağlı olabilir.

Bu konuda Wada ve arkadaşları çalışmalarında,¹⁸⁴ AAA hastalarının atak dışı dönemde dolaşımdaki miRNA'larının ekspresyon paternlerinin MEFV mutasyonlarına dayanan AAA alt grupları arasında ve kontrol grubu arasında farklılık gösterdiğini saptamışlardır.¹⁸⁴ Ancak ortak bakılan 5 miRNA'dan 3'ünde saptanan ekspresyon profillerindeki farklılık bu miRNA'ların etkilediği yolların AAA hastalığı patogenezinde önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda ise 351 hastamızın 191'inde miRNA analizi yapıldı. Otoenflamatuar hastalık patogeneğinde de etkili olduğu düşünülen apoptozis ile ilişkileri ortaya konmuş 33 miRNA'nın bu 191 hasta ve kontrol grubunda ekspresyon profillemesi yapıldı. Bu 191 hastadan 33'ü M694V homozigot, 8'i M694V Heterozigot, 46 hasta da M694V Birleşik heterozigottu. 5 hasta ise mutasyon negatifti. Hiçbir hasta atakta değildi. Tüm hastalar kolşisin tedavisi altındaydı. Buna rağmen miRNA analizi ile eşzamanlı bakılan kontrol kan örneğinde, toplam 36 hastanın akut faz reaktanları subklinik enflamasyon ile uyumlu olarak yüksek seviyede görüldü. 191 hastanın miRNA analizi sonucunda 14 miRNA'nın ekspresyon profili istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulundu. Bunlardan 4 miRNA ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre artmış (miR.365a.3p, miR.181c.5p, miR.181a.5p, miR.15a.5p), 10 miRNA (miR.27a.3p, let.7g.5p, miR.146a.5p, miR.30a.5p, let.7a.5p, miR.30e.5p, let.7c, miR.30d.5p, miR.25.3p, miR.29c.3p) ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuna göre düşük saptandı. Çalışmamızda miRNA ifade düzeyindeki kat değişimleri anlamlı bulunan bu miRNA'ları ayrı ayrı inceledik.

miR.15a.5p; miR-15a/miR-16 kümesi insan genomunda 13q14.2 bölgesinde bulunur. miR-15a/miR-16 grubu, kronik lenfositik lösemi, hipofiz adenomları ve prostat kanserinde aşağı regüle saptanmıştır.¹⁸⁸ Farklı çalışmalarda meme, kolorektal ve akciğer kanseri ve osteosarkom dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde de yine miR-15a'nın silinmesi ve/veya aşağı regülasyonu, bildirilmiştir.¹⁸⁹⁻¹⁹² Mevcut çalışmalar miR-15a/miR-16 kümesinin tümör baskılayıcı gen özellikleri sergilediğini göstermiştir. miR-15a/miR-16 kümesi tarafından düzenlenen bilinen genler arasında BCL2, MCL1, CCND1 ve WNT3A bulunmaktadır.¹⁹³⁻¹⁹⁵ Yapılan bir çalışmada, miR-15a'nın küçük hücreli olmayan akciğer kanserini BCL2L2'yi düşürerek inhibe ettiği ve böylece apoptozu desteklediği gösterilmiştir.¹⁹⁶

miR.25.3p; miR-25 kromozom 7q22.1 üzerinde bulunur.^{197,198} miR-25'in, meme kanseri veya hepatosellüler karsinomlu hastaların serumunda tutarlı bir şekilde yüksek oranda ifade edildiği gösterilmiştir.¹⁹⁹⁻²⁰¹ Ek olarak, miR - 25 seviyesi insan mide kanseri dokularında önemli ölçüde artmıştır.¹⁹² miR- 25'in aşırı ekspresyonu, mide kanseri hücrelerinde hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonunu belirgin bir şekilde artırırken, miR-25'in inhibisyonu proliferasyon oranlarında anlamlı bir

azalmaya ve apoptozda anlamlı bir artışa neden olmuştur.²⁰² Bununla birlikte, miR-25'in insan kolon kanseri dokularında aşağı regüle olduğu bulunmuştur.²⁰¹

miR.27a.3p; miR-27a'nın, miR-98, miR-106a ve miR-223 ile birlikte IL-10 ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir.²⁰²⁻²⁰⁵ Bu miRNA'ların, sistemik lupus eritematöz nefrit, enflamatuar bağırsak hastalığı, multipl skleroz ve sedef hastalığı gibi otoimmün ve enflamatuar hastalıklarda rol oynadığı öne sürülmüştür.²⁰⁶⁻²⁰⁹ IL-10'un düzensizliği, kanser, romatoid artrit, astım ve enfeksiyöz hastalıklar gibi çeşitli immünite bağlantılı hastalıklar ile ilişkilidir.²¹⁰ Bizim çalışmamızda da miR.27a.3p'nin AAA hastalarında farklı ekspresyon düzeyinde olduğu gösterilmiş olup, inflamasyonda rolü olabileceği düşünülmektedir.

miR.29c.3p; miR-29c 1q32'de yerleşmiştir (www.mirbase.org/). Yapılan çalışmalar miR-29a/b/c'nin kolorektal kanserde,²¹¹ akciğer kanserinde,^{212,213} lösemi,²¹⁴ hepatosellüler karsinom²¹⁵ ve pankreatik kanserde²¹⁵ tümör baskılayıcıları ve aşağı regüle olduğunu göstermiştir. Dahası, miR-29a/b/c ifadelerinin azalması, daha agresif fenotip ve daha kötü prognozla yakından ilişkilidir.^{215,217}

miR.30a.5p; Yapılan çalışmalar, miR-30a.5p'nin akciğer,²¹⁸ kan,²¹⁹ karaciğer,²²⁰ nazofarenks,²²¹ kemik,²²² meme,²²³ mesane malignitelerinde²²⁴ ve renal hücreli kanser dokularında^{225,226} ekspresyonunun azaldığını göstermiştir.²²⁴ Bununla birlikte, miR - 30a - 5p'nin, glioma hücre örneklerinde ekspresyonunun yukarı regüle saptandığı bildirilmiştir.^{227,228}

miR.30d.5p; miR-30d, insan kromozomu 8q24.22'de lokalizedir.²²⁹ Yapılan çalışmalarda miR-30d'nin prostat kanseri hücrelerinde, medulloblastomada, hepatosellüler karsinomada aşırı ekspresyonu gözlenmiştir.²³⁰⁻²³³ Ancak başka yayınlarda da miR-30d ekspresyonunun tiroid anaplastik karsinoması²³⁴ ve kronik lenfositik lösemi hücrelerinde azaldığı ortaya konmuştur.²³⁵ Yapılan bir çalışmada ise miR-30d ekspresyonunun hepatosellüler karsinoma dokularında aşırı ekspresyonunun Galphai2'yi hedefleyerek tümör invazyonu ve metastazı desteklediği bulunmuştur.²³⁰ Chen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, miR - 30d'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri dokularında aşağı regüle olduğunu ve doğrudan siklin E2'yi hedefleyerek hücre proliferasyonunu ve motilitesini inhibe ederek tümör baskılayıcı görevi gördüklerini göstermiştir.²³⁶ Wu ve arkadaşları miR-30d'nin Akt/FOXO sinyal transdüksiyon yoluyla renal hücre karsinomunun apoptozunu indüklediğini bulmuşlardır.²³⁷

miR-30e.5p; Bu konuda yapılan çalışmalarda, miR-30e'nin Ca(2+)/kalmmodulin bağımlı protein kinaz IId²³⁸ ve IGF2²³⁹'yi hedefleyerek vasküler hastalıkların düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir.^{238,239} Son zamanlarda, miR-30e'nin hepatosellüler karsinomdaki karaciğer tümör dokularında^{240,241} mesane kanserinde,²⁴² meme kanserinde^{243,244} ve kemoradyoterapiye cevap vermeyen rektal adenokarsinomda²⁴⁵ ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir.^{246,247} Ayrıca, bazı çalışmalarda miR-30e'nin malign tükürük bezi tümörlerinde²⁴⁸ ve akciğer adenokanserinde²⁴⁹ kanser invazyonu ve metastazı düzenlediği gösterilmiştir.²⁵⁰ Raporlanan çalışmalarda, miR-30e'nin insan NK hücre sitotoksitesini baskılayıcı olduğu kanıtlanmıştır.²⁵¹

miR-181a.5p; miR-181 ailesinin bir üyesi olan miR-181a, gelişim, farklılaşma, hematopoez ve bağışıklık modülasyonu dahil olmak üzere çeşitli olaylarda yer alır.²⁵²⁻²⁵⁶ miR-181a'nın, fare kemik iliğinde B lenfosit farklılaşması için spesifik bir pozitif regülatör olduğu gösterilmiştir.²⁵⁷ miR-181a, akciğer kanserinde,²⁵⁸ lösemi²⁵⁹ ve glioblastomda²⁶⁰ ekspresyonu azalmıştır ve KRAS,²⁶¹ Bcl – 2²⁶² ve PLAG1²⁵⁹'yi hedef olarak tümör baskılayıcı görevi görür. Ancak, miR-181a, ATM serin/treonin kinazı,²⁶³ CDX2²⁵⁵ ve KLF6'yı²⁶⁴ hedefleyerek onkogen olarak tanımlanır ve pankreatik kanser,²⁶⁵ hepatosellüler karsinom²⁵⁵ ve mide kanserinde ekspresyonu artmıştır.²⁶⁶

miR-181c.5p; miR-181c, immün hücre aktivasyonunun yeni tanımlanmış bir negatif düzenleyicisidir. Örneğin miR-181c, CD4+ T lenfosit hücre aktivasyonu işleminde aşağı regüle saptanmıştır.²⁶⁷ miR-181c, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde CD4+ T lenfosit hücre aktivasyonunda, IL-2'nin translasyonunu inhibe ederek baskılayıcı görevi görmektedir.²⁶⁷ Başka bir çalışma, en tipik proenflamatuar sitokinlerden biri olan TNF- α 'nın da miR-181c'nin doğrudan bir hedefi olduğunu göstermiştir.²⁶⁸ Bu nedenle miR-181c, inflammatuar yanıtta yeni bir regülatör olarak işlev görebilir.²⁶⁹ Mide kanserinde, yüksek miR-181c ekspresyonu lenf nodları metastazı ve prognoz ile ilişkili bulunmuştur.²⁷⁰ Fanconi anemisinde de miR-181c'nin, TNF- α 'yı hedefleyerek klonojenik potansiyeli artırdığı gözlenmiştir.²⁷¹

miR-365a.3p; miR-365a ve miR-365b'den olgun miR-365 meydana gelir.²⁷² miR-365, kromozom 16p13.12'de bulunur.²⁷³ Önceki bir çalışmada, miR-365'in kolon kanseri dokularında ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir.²⁷³ Benzer şekilde miR-365'in akciğer kanserinde,²⁷⁶ ve mide kanserinde hücre proliferasyonunu inhibe ettiği

gösterilmiştir.^{276,277} Fakat miR-365, kütanöz skuamöz hücreli karsinom dokularında²⁷⁴ ve meme kanserinde²⁷⁵ aşırı eksprese edilmektedir.²⁷⁴

Let-7a.5p, Let-7c, let-7g; İnsan let-7 ailesi 9 üyeden oluşur, bunlar let-7a, let-7b, let-7c, let-7d, let 7e, let-7f, let-7g, let-7i ve miR-98'dir.²⁷⁸ Let-7 ailesinin, Ras,²⁷⁹ yüksek mobilite grubu A2²⁸⁰ ve c-myc²⁸¹ gibi bilinen onkojenleri hedefleyerek bir tümör baskılayıcı işlevi gördüğü düşünülmektedir. Ekspresyonu azalmış let-7 ekspresyonu akciğer kanseri,²⁸² meme kanseri,²⁸⁵ akut lenfoblastik lösemi,²⁸⁴ prostat kanseri²⁸⁵ ve HCC²⁸⁶ dahil olmak üzere birçok kanserde tanımlanmıştır.²⁸⁷⁻²⁸⁹ Trang ve ark.nın²⁹⁰ yaptığı bir çalışmada, let-7 kaybının, in vivo akciğer tümör oluşumunu arttırdığı, buna karşın let-7'nin zorla sentezlenmesinin, farelerde tümör yükünü önemli ölçüde azalttığını göstermiş, bu da, kanserde let-7'nin inhibe edici fonksiyonunu göstermektedir.²⁹⁰ Let-7 aile üyelerinin, endotel hücre proliferasyonunu ve anjiyogenezi teşvik ettiği bildirilmiştir.²⁹¹⁻²⁹⁶

Let-7a'ya özel olarak baktığımızda ise, meme kanseri²⁹⁷ Burkitt lenfoma²⁹⁸ ve over kanserinde²⁹⁹ let-7a ekspresyonunun azaldığı gözlenirken, kolon kanseri,³⁰⁰ akciğer kanseri³⁰⁰ ve retinoblastomada³⁰⁰ ise ekspresyonunun arttığı saptanmıştır.³⁰¹

Let-7c'nin aşırı ekspresyonunun, kök hücre alt kümelerinin yenileme kapasitesini azaltabildiği ve let-7c'nin ekspresyon artışının, GH/IGF-1 eksenini sinyal yolu mekanizması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{302,303} Prostat kanserinde³⁰⁴ let-7c ekspresyonunun azaldığı gözlenirken, retinoblastomada³⁰⁰ ise arttığı saptanmıştır.³⁰¹

Let-7 üyeleri arasında let-7g'nin, TGF- β ve SIRT-1 sinyal yolunu hedefleyerek, anjiyogeneze bir artış ve çoklu endotelial fonksiyonlarında iyileşmeye sebep olduğu gösterilmiştir.³⁰⁴ Let-7g, ox-LDL reseptörü LOX-1'i hedefleyerek oks-LDL kaynaklı ateroskleroza düzenleyebilir.³⁰⁵ Let-7g ekspresyonunun kolon kanserinde³⁰⁰ arttığı saptanmıştır.³⁰¹

miR.146a.5p; miRNA-146a, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptosisle ilişkilidir.³⁰⁶ miR-146a disregülasyonu ve disfonksiyonu, çeşitli kanser türlerinin gelişimi ile ilişkilidir.^{307,308} Bununla birlikte, miR-146a, farklı kanserlerde zıt etkiler gösterir. Anaplastik tiroid karsinomunda ve serviks kanserinde onkogen olarak, meme ve prostat kanserlerinde tümör baskılayıcı olarak görev yaptığı bildirilmiştir.^{309,310} Kanıtlar miR-146a'nın ekspresyonunun mide kanserinde azaldığını ve bunun tümör boyutu ve zayıf prognozla ilişkili olduğunu göstermektedir.³¹¹

Özellikle miR-146a, immün reaksiyonların kritik bir negatif regülatörü olarak tanımlanmıştır.³¹² miR-146a, hem doğal hem de kazanılmış immünitede³¹³ TNF reseptör-ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve IL-1 reseptör-ilişkili kinaz 1'i (IRAK1) negatif regüle ederek etki gösterdiği bildirilmiştir. Bunların her ikisi de, proenflamatuar sinyallerde önemli olan adaptör proteinlerdir.³¹⁴ miR-146a'nın yukarı regülasyonu, IRAK1/TRAF6 ekspresyonunu aşağı doğru yönlendirir, bunu takiben NF-κB sinyalini inhibe eder ve hedef proteinlerinin (ICAM-1, VCAM-1, IL-6 ve PGE2) ekspresyonu aşağı regüle edilir.³¹⁵ Romatoid artritli hastalarda sinoviyumda ve periferik kan mononükleer hücrelerinde miR-146a, IL-17 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur.³¹⁶

Çalışmamızda ekspresyon düzeyi hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı farklı saptanan bu miRNA'ların literatürde belirtilen malign süreçlere ek olarak bir otoenflamatuar hastalık olan AAA'da da enflamasyon yolları üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda R202Q varyantı sıklığı yüksek bulunmuştur. Ülkemizde bu konuda yapılan bazı çalışmalarda da benzer oranlar bulunması nedeni ile AAA tanısına yönelik yapılacak MEFV genetik incelemesine R202Q mutasyonunun da eklenmesi önerilir.

2. M694V Homozigot hastaların ortalama başlangıç yaşları, tedaviye rağmen yıllık atak sayıları, artrit oranları ve tedaviye rağmen AFR yüksekliği oranları diğer gruplara oranla istatistiksel olarak farklıdır. Bu nedenle bu mutasyonun saptandığı bireylerde hastalık saptanmasa bile bu bireyler çok yakın takip edilmelidir.

3. Çalışmamızda, anne baba akrabalığı ve ailede AAA öyküsü de M694V homozigot grupta, diğerlerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu nedenle anne baba akrabalığı olanlarda ve ailede AAA öyküsü olanlarda bu mutasyon özellikle aklıda tutulmalıdır.

4. Çalışmamızda, literatür ile uyumlu olarak Ekzon 10 mutasyonlu grupta diğerlerine göre hastalık ortalama başlangıç yaşı, artrit sıklığı, son kontrolde AFR yüksekliği anlamlı oranda yüksek görülmüştür. Bu nedenle ekzon 10 mutasyonu olan hastalar daha yakın takip edilmelidir.

5. AAA hastalarında JİA ve HSP topluma göre daha sık görülmektedir. Bu sebeple AAA hastalarında bu hastalıklara karşı dikkat edilmelidir.

6. Çalışmamızda otoenflamatuvar hastalıklarda özellikle apoptozis ilişkili olduğu değerlendirilen 33 miRNA açısından AAA hastalarını taradık. AAA hastalarında bunlar arasından toplam 14 miRNA kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermiştir. Bunlardan dördünde ekspresyon artışı (miR.365a.3p, miR.181c.5p, miR.181a.5p, miR.15a.5p), on tanesinde de ekspresyonda azalma (miR.27a.3p, let.7g.5p, miR.146a.5p, miR.30a.5p, let.7a.5p, miR.30e.5p, let.7c, miR.30d.5p, miR.25.3p, miR.29c.3p) saptanmıştır. Buna göre apoptozis ile ilişkili miRNA'ların AAA patogenezinde rol oynadığı düşünülebilir.

7. Ancak miRNA'lar genotip, kolşisin kullanımı, biyolojik ajan alımı, atak durumu veya akut faz yüksekliği gibi durumlardan etkileniyor olabilir. Bu sebeple bu konuda daha ayrıntılı ve geniş araştırmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Kastner DL.** Familial mediterranean fever: the genetics of inflammation. *Hosp Prac* **1998**; 33:131-158.
2. **Ozen S.** Vasculopathy, Behcet's disease and familial mediterranean fever. *Curr Opin Rheum* **1999**; 11:393-398.
3. **Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL.** Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*). *Annu Rev Immunol* **2009**; 27:621-668.
4. **Ozen S.** Mutations/polymorphisms in a monogenetic autoinflammatory disease may be susceptibility markers for certain rheumatic diseases: lessons from the bedside for the benchside. *Clin Exp Rheumatol* **2009**; 27(2):29-31.
5. **Toplak, N. et al.** An international registry on autoinflammatory disease: the Eurofever experience. *Ann. Rheum. Dis.* **2012**; 71:1177-1182.
6. **Daniels M, Shohat T, Brenner-Ullman A, Shohat M.** Familial Mediterranean fever: high gene frequency among the non-Ashkenazic and Ashkenazic Jewish populations in Israel. *Am J Med Genet* **1995**; 55(3):311-4.
7. **Ozen S, Karaasan Y, Ozdemir O, Saatci U, Bakkaloglu A, Tezcan S.** Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol* **1998**; 25:2445-2449.
8. **Twig G, Livneh A, Vivante A, Afek A, Shamiss A, Derazne E, et al.** Mortality risk factors associated with familial Mediterranean fever among a cohort of 1.25 million adolescents. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**; 73(4):704-9.
9. **Aksentijevich I, Centola M, Deng Z, Sood R, Balow JE, Wood G, et al.** Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The International FMF Consortium. *Cell* **1997**; 90(4):797-807.
10. **French FMFC.** A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* **1997**; 17(1):25-31.
11. **Stoffels M, Szperl A, Simon A, Netea MG, Plantinga TS, van Deuren M, et al.** MEFV mutations affecting pyrin amino acid 577 cause autosomal dominant autoinflammatory disease. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**; 73(2):455-61.
12. **Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, et al.** The contribution of SAA1 polymorphisms to familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population. *PLoS One* **2013**; 8(2):55227.

13. **Niemi K, Teirila L, Lappalainen J, Rajamaki K, Baumann MH, Oorni K, et al.** Serum amyloid A activates the NLRP3 inflammasome via P2X7 receptor and a cathepsin B-sensitive pathway. *J Immunol* **2011**; 186(11):6119-28.
14. **Marek-Yagel D, Berkun Y, Padeh S, Abu A, Reznik-Wolf H, Livneh A, et al.** Clinical disease among patients heterozygous for familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* **2009**; 60(6):1862-6.
15. **Zhuang L, Shou T, Li K, Gao CL, Duan LC, Fang LZ, Zhang QY, Chen ZN, Zhang C, Yang ST, Li GF.** MicroRNA-30e-5p promotes cell growth by targeting PTPN13 and indicates poor survival and recurrence in lung adenocarcinoma. *J Cell Mol Med.* **2017**; 21(11):2852-2862.
16. **Ceribelli A, Yao B, Dominguez-Gutierrez PR, Nahid MA, Satoh M, Chan EK.** MicroRNAs in systemic rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* **2011**; 13(4):229.
17. **Aksentijevich I, Torosyan Y, Samuels J, Centola M, Pras E, Chae JJ, Oddoux C, Wood G, Azzaro MP, Palumbo G, Giustolisi R, Pras M, Ostrer H, Kastner DL.** Mutation and haplotype studies of FMF reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet* **1999**; 64:949-962.
18. **Gershoni-Baruch R, Shinawi M, Leah K, Badarnah K, Brik R.** Familial mediterranean fever: prevalence, penetrance and genetic drift. *Eur J Hum Genet* **2001**; 9:3-7
19. **Yilmaz E, Ozen S, Balci B, et al.** Mutation frequency of familial mediterranean fever and evidence of a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* **2001**; 9:553-555.
20. **Goldfinger SE.** *New England Journal of Medicine*, **1972**; 287:1302.
21. **Sonmez HE, Batu ED, Bilginer Y, Ozen S.** Discontinuing colchicine in symptomatic carriers for MEFV (Mediterranean FeVer) variants. *Clin Rheumatol* **2016**; 36(2):421-5.
22. **Familial mediterranean fever consortium (1997)** A candidate gene for familial mediterranean fever. *Nat Genet* 17:25-31.
23. **International familial mediterranean fever consortium** Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial mediterranean fever. *Cell* **1997**; 90: 797-807.
24. **Ozen S.** Familial mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *Eur J Pediatr.* **2003**; 162(7-8):449-454.
25. **Özen S, Batu ED, Demir S.** Familial Mediterranean Fever: Recent Developments in Pathogenesis and New Recommendations for Management./ *Front Immunol.* **2017**; 8:253.
26. **Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, Hateley SL, Ganusova EE, Mudge J, et al.** Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing. *Sci. Transl. Med.* **2011**; 3:654.

27. **Fujikura K.** Global epidemiology of Familial Mediterranean fever mutations using population exome sequences. *Mol Genet Genomic Med.* **2015**; 3(4):272-82.
28. **Padeh S, Shinar Y, Pras E, Zemer D, Langevitz P, Pras M, et al.** Clinical and diagnostic value of genetic testing in 216 Israeli children with familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* **2003**; 30(1):185-90.
29. **Cazeneuve C, Hovannesian Z, Genevieve D, Hayrapetyan H, Papin S, Girodon Boulandet E, et al.** Familial Mediterranean fever among patients from Karabakh and the diagnostic value of MEFV gene analysis in all classically affected populations. *Arthritis Rheum* **2003**; 48(8):2324-31.
30. **Ozen S, Demirkaya E, Amaryan G, Kone-Paut I, Polat A, Woo P, et al.** Results from a multicentre international registry of familial Mediterranean fever: impact of environment on the expression of a monogenic disease in children. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**; 73(4):662-7.
31. **Rowczenio DM, Iancu DS, Trojer H, Gilbertson JA, Gillmore JD, Wechalekar AD, et al.** Autosomal dominant familial Mediterranean fever in Northern European Caucasians associated with deletion of p.M694 residue-a case series and genetic exploration. *Rheumatology* **2016**; 56(2):209-13.
32. **Booty MG, Chae JJ, Masters SL, Remmers EF, Barham B, Le JM, et al.** Familial Mediterranean fever with a single MEFV mutation: where is the second hit? *Arthritis Rheum* **2009**; 60(6):1851-61.
33. **Shinar Y, Obici L, Aksentijevich I, Bennetts B, Austrup F, Ceccherini I, et al.** Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. *Ann. Rheum. Dis.* **2012**; 71(10):1599-605.
34. **Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, et al.** Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine* **2005**; 84(1):1-11.
35. **Moradian MM, Sarkisian T, Ajrapetyan H, Avanesian N.** Genotype-phenotype studies in a large cohort of Armenian patients with familial Mediterranean fever suggest clinical disease with heterozygous MEFV mutations. *J Hum Genet* **2010**; 55(6):389-93.
36. **Sarkisian T, Ajrapetyan H, Shahsuvaryan G.** Molecular study of FMF patients in Armenia. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* **2005**; 4(1):113-6.
37. **El-Shanti H, Majeed HA, El-Khateeb M.** Familial Mediterranean fever in Arabs. *Lancet* **2006**; 367(9515):1016-24.
38. **Kishida D, Nakamura A, Yazaki M, Tsuchiya-Suzuki A, Matsuda M, Ikeda SI.** Genotype-phenotype correlation in Japanese patients with familial Mediterranean fever: differences in genotype and clinical features between Japanese and Mediterranean populations. *Arthritis Res Ther* **2014**; 16(5):439.

39. **Giancane G, Ter Haar N, Wulffraat N, Vastert B, Barron K, Hentgen V, et al.** Evidence based recommendations for genetic diagnosis of familial Mediterranean fever. *Pediatr Rheumatol Online J* **2014**; 12:241.
40. **Ayaz NA, Ozen S, Bilginer Y, Erguven M, Taskiran E, Yilmaz E, Besbas N, Topaloglu R, Bakkaloglu A.** MEFV mutations in systemic onset juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology* **2009**; 48(1):23-25.
41. **Ozen S, Batu ED.** The myths we believed in familial Mediterranean fever: what have we learned in the past years? *Semin Immunopathol* **2015**; 37(4):363-9.
42. **Ozen S, Ben-Chetrit E, Bakkaloglu A, Gur H, Tinaztepe K, Calguneri M, Turgan C, Turkmen A, Akpolat I, Danaci M, Besbas N, Akpolat T.** Polyarteritis nodosa in patients with familial Mediterranean Fever (FMF): a concomitant disease or a feature of FMF? *Semin Arthritis Rheum* **2001**; 30(4):281-287.
43. **Vanaja SK, Rathinam VA, Fitzgerald KA.** Mechanisms of inflammasome activation: recent advances and novel insights. *Trends Cell Biol.* **2015**; 25(5):308-15.
44. **Papin S, Cuenin S, Agostini L, Martinon F, Werner S, Beer HD, et al.** The SPRY domain of pyrin, mutated in familial Mediterranean fever patients, interacts with inflammasome components and inhibits proIL-1 β processing. *Cell Death Differ* **2007**; 14(8):1457-66.
45. **Xu H, Yang J, Gao W, Li L, Li P, Zhang L, et al.** Innate immune sensing of bacterial modifications of Rho GTPases by the pyrin inflammasome. *Nature* **2014**; 513(7517):237-41.
46. **Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Vande Walle L, Louie S, Dong J, et al.** Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature* **2011**; 479(7371):117-21.
47. **Ng J, Hirota SA, Gross O, Li Y, Ulke-Lemee A, Potentier MS, et al.** Clostridium difficile toxin-induced inflammation and intestinal injury are mediated by the inflammasome. *Gastroenterology* **2010**; 139(2):1-3.
48. **Shao BZ, Xu ZQ, Han BZ, Su DF, Liu C.** NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review. *Front. Pharmacol.* **2015**; 6:262.
49. **Lamkanfi M, Dixit VM.** Inflammasomes and their roles in health and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2012**; 28:137.
50. **Sönmez HE, Özen S.** A clinical update on inflammasomopathies. *Int Immunol.* **2017**; 29(9):393-400.
51. **Apostolidou E, Skendros P, Kambas K, Mitroulis I, Konstantinidis T, Chrysanthopoulou A, et al.** Neutrophil extracellular traps regulate IL-1 β -mediated inflammation in familial Mediterranean fever. *Ann. Rheum. Dis.* **2016**; 75(1):269-77.

52. **Gohar F, Orak B, Kallinich T, Jeske M, Lieber M, von Bernuth H, et al.** Correlation of secretory activity of neutrophils with genotype in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheumatol* **2016**; 68(12):3010-22.
53. **Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H.** Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* **1967**; 43:227-253.
54. **Onen F.** Familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int.* **2006**;26(6):489-96.
55. **Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, Zaks N, Kastner DL, Pras M, Pras E.** MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Amyloid* **1999**; 6:1-6.
56. **Konstantopoulos K, Kanta A, Tzoulianos M, Dimou S, Sotsiou F, Politou M, Loukopoulos D.** Familial Mediterranean fever phenotype II in Greece. *Isr Med Assoc J* **2001**; 3:862-863
57. **Melikoglu M, Ozdogan H, Korkmaz C, Kasapcopur O, Arisoy N, Akkus S, Fresko Z, Yazici H.** A survey of phenotype II in familial Mediterranean fever. *Ann. Rheum. Dis.* **2000**; 59:910-913.
58. **Lidar M, Yaqubov M, Zaks N, Ben-Horin S, Langevitz P, Livneh A.** The prodrome: a prominent yet overlooked pre-attack manifestation of familial Mediterranean fever. *J Rheumatol.* **2006**; 33(6):1089-92.
59. **Fonnesu C, Cerquaglia C, Giovinali M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, La Regina M, Gasbarrini G, Manna R.** Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine.* **2009**; 76(3):227-33.
60. **Alghamdi M.** Familial Mediterranean fever, review of the literature. *Clin Rheumatol.* **2017**; 36(8):1707-1713.
61. **Kucuk A, Gezer IA, Ucar R et al.** Familial Mediterranean fever. *Acta Med (Hradec Kralove),* **2014**; 57:97-104.
62. **Capron J, Grateau G, Steichen O.** Is recurrent aseptic meningitis a manifestation of familial Mediterranean fever? A systematic review. *Clin Exp Rheumatol* **2013**; 31:127-132.
63. **Rigante D, Lopalco G, Tarantino G et al.** Non-canonical manifestations of familial Mediterranean fever: a changing paradigm. *Clin Rheumatol* **2015**; 34(9):1503-1511.
64. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-809.
65. **Sarı İ, Birlik M, Kasifoğlu T.** Familial Mediterranean fever: an updated review. *European Journal of Rheumatology* **2014**; 1(1):21-33.

66. **Kasifoglu T, Bilge SY, Sari I et al.** Amyloidosis and its related factors in Turkish patients with familial Mediterranean fever: a multicentre study. *Rheumatology* (Oxford) **2014**; 53(4):741-745.
67. **Ben-Chetrit E, Levy M.** Familial mediterranean fever. *Lancet* **1998**; 351:659-664.
68. **Tunca M, Akar S, Sirin A, Onen F, Cobankara V.** and the Turkish FMF Study Group (2002) The results of a nationwide analysis of the characteristics of Turkish familial mediterranean fever patients (abstract). *Clin Exp Rheum* **2002**; 20(26):70.
69. **Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Padeh S, Migdal A, Sohar E, Pras M.** The changing face of familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum* **1996**; 26:612-627.
70. **Schwabe AD, Peters RS.** Familial Mediterranean fever in Armenians. Analysis of 100 cases. *Medicine* (Baltimore) **1974**; 53:453-462.
71. **Shohat M.** Familial Mediterranean Fever In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. **2000**; 8.
72. **Sneh E, Pras M, Michaeli D, Shanin N, Gafni J.** Protracted arthritis in familial Mediterranean fever. *Rheumatol Rehabil X* **1997**; 16:102-106.
73. **Salai M, Langevitz P, Blankstein A, Zemmer D, Chechick A, Pras M, Horoszowski H.** Total hip replacement in familial Mediterranean fever. *Bull Hosp Jt Dis* **1993**; 53:25-28.
74. **Okutur K, Seber S, Oztekin E, Bes C, Borlu F.** Recurrent pericarditis as the initial manifestation of Familial Mediterranean fever. *Med Sci Monit.* **2008**; 14(12):139-41.
75. **Ben-Chetrit E, Levy M.** Cholicicine prophylaxis in familial Mediterranean fever: reappraisal after 15 years. *Semin Arthritis Rheum* **1994**; 20:241-46.
76. **Langevitz P, Zemer D, Livneh A, et al.** Protracted febrile myalgia in patients with familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* **1994**; 21:1708-09.
77. **Bilginer Y, Akpolat T, Ozen S.** Renal amyloidosis in children. *Pediatr Nephrol.* **2011**; 26(8):1215-27.
78. **Sattianayagam P, Hawkins P, Gillmore J.** Amyloid and the GI tract. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* **2009**; 3:615-630.
79. **Ebert EC, Nagar M.** Gastrointestinal manifestations of amyloidosis. *Am J Gastroenterol* **2008**; 103:776-787.

80. **Chopra S, Rubinow A, Koff RS, Cohen AS.** Hepatic amyloidosis. A histopathologic analysis of primary (AL) and secondary (AA) forms. *Am J Pathol* **1984**; 115:186-193.
81. **Renzulli P, Schoepfer A, Mueller E, Candinas D.** Atraumatic splenic rupture in amyloidosis. *Amyloid* **2009**; 16:47-53.
82. **Elvy A, Harbach L, Bhangu A.** Atraumatic splenic rupture: a 6-year case series. *Eur J Emerg Med.* **2010**.
83. **Zemer D, Pras M, Sohar E, et Modan M, Cabili S, Gafni J.** Colchicine in the prevention and treatment of amyloidosis of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* **1986**; 314:1001-1005.
84. **Saatci U, Ozen S, Ozdemir S, Bakkaloglu A, Besbas N, Topaloglu R, Arslan S.** FMF in children: report of a large series and discussions of the risk and prognostic factors of amyloidosis. *Eur J Pediatr* **1997**; 156:619-623.
85. **Shohat M, Magal N, Shohat T, Chen X, Dagan T, Mimouni A, Danon Y, Laron R, Ogur G, Schlezinger M, Halpern GJ, Schwabe A, Kastner D, Rotter JI, Fischel-Ghodslan N.** Phenotype-genotype correlation in FMF: evidence for an association between M694V and amyloidosis. *Eur J Hum Genet* **1999**; 7:287-292.
86. **Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Rpu-dot-Thoraval F, Genevieve D, Mindjoyan E, Papazian M, Sarkisian A, Babloyan A, Boissier B, Duquesnay P, Kouyoumdjian JC, Girodon-Boulandet E, Grateau G, Sarkisian T, Amselem S.** Identification of MEFV independent modifying genetic factors for FMF. *Am J Hum Genet* **2000**; 67:1136-1143.
87. **Gershoni-Baruch R, Brik R, Zacks N, Shinawi M, Lidar M, Livneh A.** The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with FMF. *Arthritis Rheum* **2003**; 48:1149-1155.
88. **Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, Livneh A, Cattani D, Yalcinkaya F, Ozen S, Majeed H, Ozdogan H, Kastner D, Booth D, Ben-Chetrit E, Pugnere D, Michelson C, Seguret F, Gershoni-Baruch R.** Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* **2007**; 56:1706-1712.
89. **Majeed HA, Al-Qudah AK, Qubain H, Shahin HM.** The clinical patterns of myalgia in children with familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum.* **2000**; 30:138 -143. 92:309-318.
90. **Kaplan E, Mukamel M, Barash J, Brik R, Padeh S, Berkun Y, et al.** 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(45):114-7.
91. **Mercan R, Turan A, Bitik B, Tufan A, Haznedaroglu S, Goker B.** Rapid resolution of protracted febrile myalgia syndrome with anakinra: report of two cases. *Mod Rheumatol* **2016**; 26(3):458-9.

92. **Bilginer Y, Ayaz NA, Ozen S.** Anti-IL-1 treatment for secondary amyloidosis in an adolescent with FMF and Behçet's disease. *Clin Rheumatol* **2009**; 29:209-210.
93. **Besbas N, Ozdemir S, Saatci I, Bakkaloglu A, Ozen S, Saatci U.** Sacroiliitis in familial Mediterranean fever: an unusual presentation in childhood. *Turk J Pediatr* **1999**; 41:387-390.
94. **Akar S, Goktay Y, Akinci B, Tekis D, Biberoglu K, Birlik M, Onen F, Tunca M, Akkoc N.** A case of familial Mediterranean fever and polyarteritis nodosa complicated by spontaneous perirenal and subcapsular hepatic hemorrhage requiring multiple arterial embolizations. *Rheumatol Int* **2005**; 25:60-64.
95. **Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yazici H.** Acute phase response in familial mediterranean fever. *Ann. Rheum. Dis.* **2002**; 61:79-81.
96. **Drenth JP, van der Meer JW.** Hereditary periodic fever. *N Engl J Med* **2001**; 345:1748-1757.
97. **Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD.** Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet* **2001**; 29:301-305.
98. **McDermott MF, et al.** Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* **1999**; 97, 133-144.
99. **Cantarini L, et al.** Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): State of the art and future perspectives. *Autoimmunity Rev.* **2012**; 12:38-43.
100. **Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E, Hull K, Oh HH, Goldbach-Mansky R, Dean J, Athreya B, Reginato AJ, Henrickson M, Pons-Estel B, O'Shea JJ, Kastner DL.** The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in TNFRSF1A, ancestral origins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet* **2001**; 69:301-314.
101. **Aganna E, Hammond L, Hawkins PN, Aldea A, McKee SA, van Amstel HK, Mischung C, Kusuhara K, Saulsbury FT, Lachmann HJ, Bybee A, McDermott EM, La Regina M, Arostegui JJ, Campistol JM, Worthington S, High KP, Molloy MG, Baker N, Bidwell JL, Castaner JL, Whiteford ML, Janssens-Korpola PL, Manna R, Powell RJ, Woo P, Solis P, Minden K, Frenkel J, Yague J, Mirakian RM, Hitman GA, McDermott MF.** Heterogeneity among patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome phenotypes. *Arthritis Rheum* **2003**; 48:2632-2644.
102. **Hull KM, et al.** The TNF-receptor associated periodic syndrome (TRAPS): emerging concepts of an autoinflammatory disorder. *Medicine* **2002**; 81:349-368.
103. **Ter Haar N, et al.** Treatment of autoinflammatory diseases: results from the Eurofever Registry and a literature review. *Ann. Rheum. Dis.* **2013**; 72:678-685.

- 104. van der Meer JW, et al.** Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever: a new syndrome. *Lancet* **1984**; 1:1087-1090.
- 105. Drenth JP, et al.** Mutations in the gene encoding mevalonate kinase cause hyper-IgD and periodic fever syndrome. *Nat. Genet.* **1999**; 22:178-181.
- 106. Mandey SH, Kuijk LM, Frenkel J, Waterham HR.** A role for geranylgeranylation in interleukin 1 β secretion. *Arthritis Rheum.* **2006**; 54:3690-3695.
- 107. van der Burgh R, Ter Haar NM, Boes ML, Frenkel J.** Mevalonate kinase deficiency, a metabolic autoinflammatory disease. *Clin. Immunol.* **2013**; 147:197-206.
- 108. Federici S, Caorsi R, Gattorno M.** The autoinflammatory diseases. *Swiss Med. Wkly* **2012**; 142:13602.
- 109. Frenkel J, et al.** Clinical and molecular variability in childhood periodic fever with hyperimmunoglobulinemia D. *Rheumatology (Oxford)* **2001**; 40:579-584.
- 110. Stoffels M, Simon A.** Hyper-IgD syndrome or mevalonate kinase deficiency. *Curr. Opin. Rheumatol.* **2011**; 23:419-423.
- 111. Ammouri M, et al.** Diagnostic value of serum immunoglobulinemia D level in patients with a clinical suspicion of hyper IgD syndrome. *Rheumatology (Oxford)* **2007**; 46:1597-1600.
- 112. Ozen S, Bilginer Y.** A clinical guide to autoinflammatory diseases: familial Mediterranean fever and next-of-kin. *Nat Rev Rheumatol.* **2014**; 10(3):135-47.
- 113. Feldmann J, et al.** Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am. J. Hum. Genet.* **2002**; 71:198-203.
- 114. Aksentijevich I, et al.** De novo CIAS1 mutations, cytokine activation, and evidence for genetic heterogeneity in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID): a new member of the expanding family of pyrin- associated autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum.* **2002**; 46:3340-3348.
- 115. Muckle TJ, Wellsm.** Urticaria, deafness, and amyloidosis: a new heredo-familial syndrome. *Q J Med* **1962**; 31:235-248.
- 116. Ozen S, Frenkel J, Ruperto N, Gattorno M.** The Eurofever Project: towards better care for autoinflammatory diseases. *Eur. J. Pediatr.* **2011**; 170:445-452.

117. **Prieur AM, Griscelli C, Lampert F, Truckenbrodt H, Guggenheim MA, Lovell DJ, Pelkonen P, Chevrant-Breton J, Ansell BM.** A chronic, infantile, neurological, cutaneous and articular (CINCA) syndrome. A specific entity analysed in 30 patients. *Scand J Rheumatol Suppl* **1987**; 66:57-68.
118. **Sag E, Bilginer Y, Ozen S.** Autoinflammatory Diseases with Periodic Fevers. *Curr Rheumatol Rep.* **2017**; 19(7):41.
119. **Padeh S, Brezniak N, Zemer D, Pras E, Livneh A, Langevitz P, Migdal A, Pras M, Passwell JH.** Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome: clinical characteristics and outcome. *J Pediatr* **1999**; 135:98-101.
120. **Marshall GS, Edwards KM, Butler J, Lawton AR.** Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis. *J Pediatr.* **1987**; 110(1):43-6.
121. **Hofer M, Pillet P, Cochard MM, et al.** International periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome cohort: description of distinct phenotypes in 301 patients. *Rheumatology.* **2014**; 53(6):1125-9.
122. **Batu ED, Eroglu FK, Tsoukas P, et al.** Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome: analysis of patients from two geographic areas. *Arthritis Care Res.* **2016**; 68:1859.
123. **Kastner DL, Aksentijevich I, Goldbach-Mansky R.** Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective. *Cell.* **2010**; 140(6):784-90.
124. **Berkun Y, Levy R, Hurwitz A, et al.** The familial Mediterranean fever gene as a modifier of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* **2011**; 40(5):467-72.
125. **ter Haar NM, Oswald M, Jeyaratnam J, et al.** Recommendations for the management of autoinflammatory diseases. *Ann. Rheum. Dis.* **2015**; 74(9):1636-44.
126. **Vanoni F, Theodoropoulou K, Hofer M.** PFAPA syndrome: a review on treatment and outcome. *Pediatric Rheumatol Online J.* **2016**; 14(1):38.
127. **Licameli G, Lawton M, Kenna M, Dedeoglu F.** Long-term surgical outcomes of adenotonsillectomy for PFAPA syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* **2012**; 138(10):902-6.
128. **Livneh A, Langevitz P, Zemer D, et al.** Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* **1997**; 40:1879-1885.
129. **Ozen S, Demirkaya E, Erer B, Livneh A, Ben-Chetrit E, Giancane G, et al.** EULAR recommendations for the management of familial Mediterranean fever. *Ann. Rheum. Dis.* **2016**; 75(4):644-51.

130. Taskiran EZ, Cetinkaya A, Balci-Peynircioglu B, Akkaya YZ, Yilmaz E. The effect of colchicine on pyrin and pyrin interacting proteins. *J Cell Biochem* **2012**; 113(11):3536-46.
131. Krendel M, Zenke FT, Bokoch GM. Nucleotide exchange factor GEF-H1 mediates cross-talk between microtubules and the actin cytoskeleton. *Nat Cell Biol* **2002**; 4(4):294-301.
132. Van Gorp H, Saavedra PH, de Vasconcelos NM, Van Opdenbosch N, Vande Walle L, Matusiak M, et al. Familial Mediterranean fever mutations lift the obligatory requirement for microtubules in pyrin inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2016**; 113(50):14384-9.
133. Ben-Chetrit E, Bergmann S, Sood R. Mechanism of the anti-inflammatory effect of colchicine in rheumatic diseases: a possible new outlook through microarray analysis. *Rheumatology* **2006**; 45(3):274-82.
134. Manukyan G, Petrek M, Tomankova T, Martirosyan A, Tatyana M, Navratilova Z, et al. Colchicine modulates expression of pro-inflammatory genes in neutrophils from patients with familial Mediterranean fever and healthy subjects. *J Biol Regul Homeost Agents* **2013**; 27(2):329-36.
135. Oner A, Erdogan O, Demircin G, Bulbul M, Memis L. Efficacy of colchicine therapy in amyloid nephropathy of familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol* 18:521-526.
136. Van der Hilst J, Moutschen M, Messiaen PE, Lauwerys BR, Vanderschueren S. Efficacy of anti-IL-1 treatment in familial Mediterranean fever: a systematic review of the literature. *Biologics* **2016**; 10:75-80.
137. Fradkin A, Yahav J, Zemer D, Jonas A. Colchicine-induced lactose malabsorption in patients with familial Mediterranean fever. *Isr J Med Sci* **2003**; 31(10):616-20.
138. Dinarello CA, Simon A, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov* **2012**; 11(8):633-52.
139. Ruperto N, Brunner HI, Quartier P, Constantin T, Wulffraat N, Horneff G, et al. Two randomized trials of canakinumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med* **2012**; 367(25):2396-406.
140. Bilgen SA, Kilic L, Akdogan A, Kiraz S, Kalyoncu U, Karadag O, et al. Effects of anti-tumor necrosis factor agents for familial Mediterranean fever patients with chronic arthritis and/or sacroiliitis who were resistant to colchicine treatment. *J Clin Rheumatol* **2011**; 17(7):358-62.
141. Ozen S, Demirkaya E, Duzova A, Erdogan O, Erken E, Gul A, et al. FMF50: a score for assessing outcome in familial Mediterranean fever. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**; 73(5):897-901.
142. Piram M, Kone-Paut I, Lachmann HJ, Frenkel J, Ozen S, Kuemmerle-Deschner J, et al. Validation of the auto-inflammatory diseases activity index (AIDAI) for hereditary recurrent fever syndromes. *Ann. Rheum. Dis.* **2014**; 73(12):2168-73.

143. **Ter Haar NM, Annink KV, Al-Mayouf SM, Amaryan G, Anton J, Barron KS, et al.** Development of the autoinflammatory disease damage index (ADDI). *Ann. Rheum. Dis.* **2016**.
144. **Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V.** The C. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* **1993**; 75(5):843-54.
145. **Ruvkun G.** Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* **2001**; 294(5543):797-9.
146. **Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T.** Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* **2001**; 294:853-858.
147. **Katsuda T, Ikeda S, Yoshioka Y, Kosaka N, Kawamata M, Ochiya T.** Physiological and pathological relevance of secretory microRNAs and a perspective on their clinical application. *Biol Chem.* **2014**; 395(4):365-73.
148. **Bartel DP.** MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* **2009**; 136:215-233.
149. **Ambros V.** The functions of animal microRNAs. *Nature* **2004**; 431:350-355.
150. **Esquela-Kerscher A, Slack FJ.** Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* **2006**; 6(4):259-69.
151. **Zhang Y, Wang Z, Gemeinhart RA.** Progress in microRNA delivery. *J Control Release.* **2013**; 172(3):962-74.
152. **Bhadra U, Patra P, Chhatai J, Pal-Bhadra M.** Pigmy MicroRNA: surveillance cops in Therapies kingdom. *Mol Med.* **2016**; 28;22.
153. **Karagun BS, Antmen B, Sasmaz I, Kılınç Y.** Mikro RNA and Cancer. *Türk Klinik Biyokimya Derg* **2014**; 12(1):45-56
154. **Krol J, Loedige I, Filipowicz W.** The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* **2010**; 11:597-610.
155. **Zhou H, Huang X, Cui H, Luo X, Tang Y, Chen S, Wu L, Shen N.** miR-155 and its star-form partner miR-155* cooperatively regulate type I interferon production by human plasmacytoid dendritic cells. *Blood* **2010**; 116:5885-5894.
156. **Nahid MA, Pauley KM, Satoh M, Chan EK.** miR-146a is critical for endotoxin induced tolerance: implication in innate immunity. *J Biol Chem* **2009**; 284:34590-34599.
157. **Nahid MA, Satoh M, Chan EK.** Mechanistic role of microRNA-146a in endotoxin-induced differential cross-regulation of TLR signaling. *J Immunol* **2010**; 86:1723-1734.

158. **Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, Yoshimura A, Baltimore D, Rudensky AY.** Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* **2010**; 142:914-929.
159. **Curtale G, Citarella F, Carissimi C, Goldoni M, Carucci N, Fulci V, Franceschini D, Meloni F, Barnaba V, Macino G.** An emerging player in the adaptive immune response: microRNA-146a is a modulator of IL-2 expression and activation-induced cell death in T lymphocytes. *Blood* **2010**; 115:265-273.
160. **O'Connell RM, Kahn D, Gibson WS, Round JL, Scholz RL, Chaudhuri AA, Kahn ME, Rao DS, Baltimore D.** MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development. *Immunity* **2010**; 33:607-619.
161. **Blum S, Bonelli M, Niederreiter B, Puchner A, Mayr G, Hayer S, Koenders MI, van den Berg WB, Smolen J, Redlich K.** Essential role for micro-RNA 155 in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum* **2011**; 63:1281-1288.
162. **Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D.** NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**; 103:12481-12486.
163. **O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS, Baltimore D.** Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *Proc Natl Acad Sci USA* **2009**; 106:7113-7118.
164. **Boldin MP, et al.** miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med* **2011**; 208:1189-1201.
165. **Zhao JL, Rao DS, Boldin MP, Taganov KD, O'Connell RM, Baltimore D.** NF-kappaB dysregulation in microRNA-146a-deficient mice drives the development of myeloid malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA* **2011**; 108:9184-9189.
166. **Lu C, et al.** miR-221 and miR-155 regulate human dendritic cell development, apoptosis, and IL-12 production through targeting of p27kip1, KPC1, and SOCS-1. *Blood* **2011**; 117:4293-4303.
167. **Turner ML, Schnorfeil FM, Brocker T.** MicroRNAs regulate dendritic cell differentiation and function. *J Immunol* **2011**; 187:3911-3917.
168. **Montagner S, Orlandi EM, Merante S, Monticelli S.** The role of miRNAs in mast cells and other innate immune cells. *Immunol Rev.* **2013**; 253(1):12-24.
169. **Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N.** Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* **2008**; 9(2):102-14.
170. **Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, Detmar M, Gay S, Kyburz D.** Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **2008**; 58(4):1001-9.

171. **Lidar M, Livneh A.** Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med* **2007**; 65:318-324.
172. **Inal A, Yilmaz M, Kendirli SG, Altintas DU, Karakoc GB.** The clinical and genetical features of 124 children with Familial Mediterranean fever: experience of a single tertiary center. *Rheumatol Int.* **2009**; 29(11):1279-85.
173. **Ozturk C, Halicioglu O, Coker I, Gulez N, Sutcuoglu S, Karaca N, Aksu G, Kutukculer N.** Association of clinical and genetical features in FMF with focus on MEFV strip assay sensitivity in 452 children from western Anatolia, Turkey. *Clin Rheumatol.* **2012**; 31(3):493-501.
174. **Ece A, Çakmak E, Uluca Ü, Kelekçi S, Yolbaş İ, Güneş A, Yel S, Tan İ, Şen V.** The MEFV mutations and their clinical correlations in children with familial Mediterranean fever in southeast Turkey. *Rheumatol Int.* **2014**; 34(2):207-12.
175. **Barut K, Sahin S, Adrovic A, Sinoplu AB, Yucel G, Pamuk G, Aydın AK, Dasdemir S, Turanlı ET, Buyru N, Kasapcopur O.** Familial Mediterranean fever in childhood: a single-center experience. *Rheumatol Int.* **2018**; 38(1):67-74.
176. **Akar S, Yuksel F, Tunca M, Soysal O, Solmaz D, Gerdan V, Celik A, Sen G, Onen F, Akkoc N.** Familial Mediterranean fever: risk factors, causes of death, and prognosis in the colchicine era. *Medicine (Baltimore).* **2012**; 91(3):131-6.
177. **Coker I, Colak A, Yolcu I, Türkön H, Nalbantoglu SM.** [MEFV gene mutation spectrum in familial Mediterranean fever (FMF): a single center study in the Aegean region of Turkey]. *Z Rheumatol.* **2011**; 70(6):511-6.
178. **Bernot A, da Silva C, Petit JL, Cruaud C, Caloustian C, Castet V, Ahmed-Arab M, Dross C, Dupont M, Cattani D, Smaoui N, Dodé C, Pêcheux C, Nédelec B, Medaxian J, Rozenbaum M, Rosner I, Delpech M, Grateau G, Demaille J, Weissenbach J, Touitou I.** Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF). *Hum Mol Genet.* **1998**; 7(8):1317-25.
179. **Ritis K, Giaglis S, Spathari N, Micheli A, Zonios D, Tzoanopoulos D, Deltas CC, Rafail S, Mean R, Papadopoulos V, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM, Kartalis G.** Non-isotopic RNase cleavage assay for mutation detection in MEFV, the gene responsible for familial Mediterranean fever, in a cohort of Greek patients. *Ann. Rheum. Dis.* **2004**; 63(4):438-43.
180. **Giaglis S, Papadopoulos V, Kambas K, Doumas M, Tsironidou V, Rafail S, Kartalis G, Speletas M, Ritis K.** MEFV alterations and population genetics analysis in a large cohort of Greek patients with familial Mediterranean fever. *Clin Genet.* **2007**; 71(5):458-67.
181. **Yigit S, Karakus N, Tasliyurt T, Kaya SU, Bozkurt N, Kisacik B.** Significance of MEFV gene R202Q polymorphism in Turkish familial Mediterranean fever patients. *Gene.* **2012**; 506(1):43-5.

182. Comak E, Akman S, Koyun M, Dogan CS, Gokceoglu AU, Arikan Y, Keser I. Clinical evaluation of R202Q alteration of MEFV genes in Turkish children. *Clin Rheumatol*. **2014**; 33(12):1765-71.
183. Latsoudis H, Mashreghi MF, Grün JR, Chang HD, Stuhlmüller B, Repa A, Gergiannaki I, Kabouraki E, Vlachos GS, Häupl T, Radbruch A, Sidiropoulos P, Doukoumetzidis K, Kardassis D, Niewold TB, Boumpas DT, Goulielmos GN. Differential Expression of miR-4520a Associated With Pyrin Mutations in Familial Mediterranean Fever (FMF). *J Cell Physiol*. **2017**; 232(6):1326-1336.
184. Wada T, Toma T, Matsuda Y, Yachie A, Itami S, Taguchi YH, Murakami Y. Microarray analysis of circulating microRNAs in familial Mediterranean fever. *Mod Rheumatol*. **2017**; 27(6):1040-1046.
185. Akkaya-Ulum YZ, Balci-Peynircioglu B, Karadag O, Eroglu FK, Kalyoncu U, Kiraz S, Ertenli AI, Özen S, Yilmaz E. Alteration of the microRNA expression profile in familial Mediterranean fever patients. *Clin Exp Rheumatol*. **2017**; 108(6):90-94.
186. Amarilyo G, Pillar N, Ben-Zvi I, Weissglas-Volkov D, Zalcman J, Harel L, Livneh A, Shomron N. Analysis of microRNAs in familial Mediterranean fever. *PLoS One*. **2018**; 13(5).
187. Hortu HO, Karaca E, Sozeri B, Gulez N, Makay B, Gunduz C, Atik T, Tekin IM, Unsal SE, Ozgur C. Evaluation of the effects of miRNAs in familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol*. **2018**; 13.
188. Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives, *Cell Death Differ*. **2010**; 17:215-220.
189. Tian X, Zhang J, Yan L, Dong JM and Guo Q. miRNA-15a inhibits proliferation, migration and invasion by targeting TNFAIP1 in human osteosarcoma cells. *Int J Clin Exp Pathol* **2015**; 8:6442-6449.
190. Luo Q, Li X, Li J, Kong X, Zhang J, Chen L, Huang Y and Fang L. miR-15a is underexpressed and inhibits the cell cycle by targeting CCNE1 in breast cancer. *Int J Oncol* **2013**; 43:1212-1218.
191. Bandi N, Vassella E. miR-34a and miR-15a/16 are co-regulated in non-small cell lung cancer and control cell cycle progression in a synergistic and Rb-dependent manner. *Mol Cancer* **2011**; 10:55.
192. Zhao H, Wang Y, Yang L, Jiang R, Li W. MiR-25 promotes gastric cancer cells growth and motility by targeting RECK. *Mol Cell Biochem* **2014**; 385:207-213.
193. Bonci D, Coppola V, Musumeci M, Addario A, Giuffrida R, Memeo L, et al. The miR-15a-miR-16-1 cluster controls prostate cancer by targeting multiple oncogenic activities, *Nat. Med*. **2008**; 14:1271-1277.

194. Calin GA, Cimmino A, Fabbri M, Ferracin M, Wojcik SE, Shimizu M, et al., MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**; 105:5166-5171.
195. Pekarsky Y, Croce CM. Role of miR-15/16 in CLL. *Cell Death Differ.* **2015**; 22:6-11.
196. Yang T, Thakur A, Chen T, Yang L, Lei G, Liang Y, et al. MicroRNA-15a induces cell apoptosis and inhibits metastasis by targeting BCL2L2 in non-small cell lung cancer. *Tumour Biol.* **2015**; 36:4357-65.
197. Petrocca F, Vecchione A and Croce CM. Emerging role of miR-106b-25 miR-17-92 clusters in the control of transforming growth factor beta signaling. *Cancer Res* **2008**; 68:8191-8194.
198. Savita U, Karunakaran D. MicroRNA- 106b-25 cluster targets beta-TRCP2, increases the expression of Snail and enhances cell migration and invasion in H1299 (non small cell lung cancer) cells. *Biochem Biophys Res Commun* **2013**; 434:841-847.
199. Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, et al: Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* **2010**; 70:9798-9807.
200. Hu Z, Dong J, Wang LE, et al. Serum microRNA profiling and breast cancer risk: the use of miR-484/191 as endogenous controls. *Carcinogenesis* **2012**; 33:828-834.
201. Li Q, Zou C, Zou C, et al. MicroRNA-25 functions as a potential tumor suppressor in colon cancer by targeting Smad7. *Cancer Lett* **2013**; 335:168-174.
202. Sharma A, Kumar M, Aich J, et al. Posttranscriptional regulation of interleukin-10 expression by hsa-miR-106a. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2009**; 106:5761-5766.
203. Liu Y, Chen Q, Song Y, et al. MicroRNA-98 negatively regulates IL-10 production and endotoxin tolerance in macrophages after LPS stimulation. *FEBS Lett*, **2011**; 585:1963-1968.
204. Lu MC, Yu CL, Chen HC, et al. Increased miR-223 expression in T cells from patients with rheumatoid arthritis leads to decreased insulin-like growth factor-1-mediated interleukin-10 production. *Clin Exp Immunol*, **2014**; 177:641-651.
205. Xie N, Cui H, Banerjee S, et al. miR-27a regulates inflammatory response of macrophages by targeting IL-10. *J Immunol*, **2014**; 193:327-334.
206. Sonkoly E, Wei T, Janson PC, et al. MicroRNAs: Novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? *Plos One*, **2007**; 2:610.
207. Paraskevi A, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, et al. Circulating microRNA in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*, **2012**; 6:900-904.

208. Carlsen AL, Schetter AJ, Nielsen CT, et al. Circulating microRNA expression profiles associated with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, **2013**; 65:1324-1334.
209. Honardoost MA, Naghavian R, Ahmadinejad F, et al. Integrative computational mRNA-miRNA interaction analyses of the autoimmune-deregulated miRNAs and well-known Th17 differentiation regulators: An attempt to discover new potential miRNAs involved in Th17 differentiation. *Gene*, **2015**; 572:153-162.
210. Couper KN, Blount DG, Riley EM. 2008. IL-10: The master regulator of immunity to infection. *J Immunol*, **2008**; 180:5771-5777.
211. Cummins JM, He Y, Leary RJ, Pagliarini R, Diaz Jr LA, Sjoblom T, Barad O, Bentwich Z, Szafranska AE, Labourier E, Raymond CK, Roberts BS, Juhl H, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. The colorectal microRNAome. *Proc Natl Acad Sci USA* **2006**; 103(10):3687-3692.
212. Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanesi N, Callegari E, Liu S, Alder H, Costinean S, Fernandez-Cymering C, Volinia S, Guler G, Morrison CD, Chan KK, Marcucci G, Calin GA, Huebner K, Croce CM. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci USA* **2007**; 104(40):15805-15810.
213. Cushing L, Costinean S, Xu W, Jiang Z, Madden L, Kuang P, Huang J, Weisman A, Hata A, Croce CM, Lu J. Disruption of miR-29 leads to aberrant differentiation of smooth muscle cells selectively associated with distal lung vasculature. *PLoS Genet* **2015**; 11(5):1005238.
214. Garzon R, Heaphy CE, Havelange V, Fabbri M, Volinia S, Tsao T, Zanesi N, Kornblau SM, Marcucci G, Calin GA, Andreeff M, Croce CM. MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia. *Blood* **2009**; 114(26):5331-5341.
215. Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH, Zhuang SM. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **2010**; 51(3):836-845.
216. Kwon JJ, Nabinger SC, Vega Z, Sahu SS, Alluri RK, Abdul-Sater Z, Yu Z, Gore J, Nalepa G, Saxena R, Korc M, Kota J. Pathophysiological role of microRNA-29 in pancreatic cancer stroma. *Sci Rep* **2015**; 5:11450.
217. Zhao JJ, Lin J, Lwin T, Yang H, Guo J, Kong W, Dessureault S, Moscinski LC, Rezanian D, Dalton WS, Sotomayor E, Tao J, Cheng JQ. microRNA expression profile and identification of miR-29 as a prognostic marker and pathogenetic factor by targeting CDK6 in mantle cell lymphoma. *Blood* **2010**; 115(13):2630-2639.
218. Mathew LK, Lee SS, Skuli N, Rao S, Keith B, Nathanson KL, Lal P, Simon MC. Restricted expression of miR-30c-2-3p and miR-30a-3p in clear cell renal cell carcinomas enhances HIF2alpha activity. *Cancer Discov* **2014**; 4:53-60.

219. Tan X, Qin W, Zhang L, Hang J, Li B, Zhang C, Wan J, Zhou F, Shao K, Sun Y, et al. A 5-microRNA signature for lung squamous cell carcinoma diagnosis and hsa-miR-31 for prognosis. *Clin Cancer Res* **2011**; 17:6802-6811.
220. Fuster O, Llop M, Dolz S, García P, Such E, Ibáñez M, Luna I, Gómez I, López M, Cervera J, et al. Adverse prognostic value of MYBL2 overexpression and association with microRNA-30 family in acute myeloid leukemia patients. *Leuk Res* **2013**; 37:1690-1696.
221. Liu Z, Tu K, Liu Q. Effects of microRNA-30a on migration, invasion and prognosis of hepatocellular carcinoma. *FEBS Lett* **2014**; 588:3089-3097.
222. Wang HY, Li YY, Fu S, Wang XP, Huang MY, Zhang X, Shao Q, Deng L, Zeng MS, Zeng YX, Shao JY. MicroRNA-30a promotes invasiveness and metastasis in vitro and in vivo through epithelial-mesenchymal transition and results in poor survival of nasopharyngeal carcinoma patients. *Exp Biol Med* **2014**; 239:891-898.
223. Huang Q, Jiang Z, Meng T, Yin H, Wang J, Wan W, Cheng M, Yan W, Liu T, Song D, et al. MiR-30a inhibits osteolysis by targeting RunX2 in giant cell tumor of bone. *Biochem Biophys Res Commun* **2014**; 453:160-165.
224. Fu J, Xu X, Kang L, Zhou L, Wang S, Lu J, Cheng L, Fan Z, Yuan B, Tian P, et al. MiR-30a suppresses breast cancer cell proliferation and migration by targeting Eya2. *Biochem Biophys Res Commun* **2014**; 445:314-319.
225. Liu H, Brannon AR, Reddy AR, Alexe G, Seiler MW, Arreola A, Oza JH, Yao M, Juan D, Liou LS, et al. Identifying mRNA targets of microRNA dysregulated in cancer: With application to clear cell renal cell carcinoma. *BMC Syst Biol* **2010**; 4:51.
226. Müller S, Nowak K. Exploring the miRNA-mRNA regulatory network in clear cell renal cell carcinomas by next-generation sequencing expression profiles. *Biomed Res Int* **2014**; 948-408.
227. Jiang X, Du L, Wang L, Li J, Liu Y, Zheng G, Qu A, Zhang X, Pan H, Yang Y, Wang C. Serum microRNA expression signatures identified from genome-wide microRNA profiling serve as novel noninvasive biomarkers for diagnosis and recurrence of bladder cancer. *Int J Cancer* **2015**; 136:854-862.
228. Jia Z, Wang K, Wang G, Zhang A, Pu P. MiR-30a-5p antisense oligonucleotide suppresses glioma cell growth by targeting SEPT7. *PLoS One* **2013**; 8:55008.
229. Yang XJ, Si RH, Liang YH, Ma BQ, Jiang ZB, Wang B, Gao P. Mir-30d increases intracellular survival of *Helicobacter pylori* through inhibition of autophagy pathway. *World J Gastroenterol* **2016**; 22:3978-3991.
230. Yao J, Liang L, Huang S, Ding J, Tan N, Zhao Y, Yan M, Ge C, Zhang Z, Chen T, et al. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **2010**; 51:846-856.

231. Lu Y, Ryan SL, Elliott DJ, Bignell GR, Futreal PA, Ellison DW, Bailey S, Clifford SC. *PloS One* **2009**; 4:6159.
232. Kumar M, Lu Z, Takwi AA, Chen W, Callander NS, Ramos KS, Young KH, Li Y. *Oncogene* **2011**; 30:843-853.
233. Kobayashi N, Uemura H, Nagahama K, Okudela K, Furuya M, Ino Y, Ito Y, Hirano H, Inayama Y, Aoki I, et al. Identification of miR-30d as a novel prognostic maker of prostate cancer. *Oncotarget* **2012**; 3:1455-1471.
234. Visone R, Pallante P, Vecchione A, Cirombella R, Ferracin M, Ferraro A, Volinia S, Coluzzi S, Leone V, Borbone E, Liu CG, Petrocca F, Troncone G, Calin GA, Scarpa A, Colato C, Tallini G, Santoro M, Croce CM, Fusco A. *Oncogene* **2007**; 26:7590-7595.
235. Marton S, Garcia MR, Robello C, Persson H, Trajtenberg F, Pritsch O, Rovira C, Naya H, Dighiero G, Cayota A. *Leukemia* **2008**; 22:330-338.
236. Chen D, Guo W, Qiu Z, Wang Q, Li Y, Liang L, Liu L, Huang S, Zhao Y, He X. MicroRNA-30d-5p inhibits tumour cell proliferation and motility by directly targeting CCNE2 in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* **2015**; 362:208-217.
237. Wu C, Jin B, Chen L, Zhuo D, Zhang Z, Gong K, Mao Z. MiR-30d induces apoptosis and is regulated by the Akt/FOXO pathway in renal cell carcinoma. *Cell Signal* **2013**; 25:1212-1221.
238. Liu YF, Spinelli A, Sun LY, et al. Micro-RNA-30 inhibits neointimal hyperplasia by targeting Ca(2 +)/calmodulin- dependent protein kinase IId (CaMKIId). *Sci Rep.* **2016**; 6:26166-26176.
239. Ding W, Li J, Singh J, et al. miR-30e targets IGF2-regulated osteogenesis in bone marrow-derived mesenchymal stem cells, aortic smooth muscle cells, and ApoE^{-/-} mice. *Cardiovasc Res.* **2015**; 106:131-42.
240. Feng G, Shi H, Li J, Yang Z, Fang R, Ye L, Zhang W, Zhang X. MiR-30e suppresses proliferation of hepatoma cells via targeting prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1 (P4HA1) mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* **2016**; 472:516-522.
241. Bhattacharya S, Steele R, Shrivastava S, Chakraborty S, Di Bisceglie AM, Ray RB. Serum miR-30e and miR-223 as novel noninvasive biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* **2016**; 186:242-247.
242. Wang G, Zhang H, He H, et al. Up-regulation of microRNA in bladder tumor tissue is not common. *Int Urol Nephrol.* **2010**; 42:95-102.
243. D'Aiuto F, Callari M, Dugo M, et al. miR-30e* is an independent subtype-specific prognostic marker in breast cancer. *Br J Cancer.* **2015**; 113:290-8.

244. **Lin Z, Li JW, Wang Y, et al.** Abnormal miRNA-30e Expression is Associated with Breast Cancer Progression. *Clin Lab.* **2016**; 62:121-8.
245. **D'Angelo E, Fassan M, Maretto I, et al.** Serum miR-125b is a non-invasive predictive biomarker of the pre-operative chemoradiotherapy responsiveness in patients with rectal adenocarcinoma. *Oncotarget.* **2016**; 7:28647-57.
246. **Ouzounova M, Vuong T, Ancey PB, Ferrand M, Durand G, Le-Calvez Kelm F, et al.** MicroRNA miR-30 family regulates non-attachment growth of breast cancer cells. *BMC Genomics* **2013**; 14:139.
247. **Amar L, Benoit C, Beaumont G, Vacher CM, Crepin D, Taouis M, et al.** MicroRNA expression profiling of hypothalamic arcuate and paraventricular nuclei from single rats using Illumina sequencing technology. *J Neurosci Methods* **2012**; 209:134-143.
248. **Cinpolat O, Unal ZN, Ismi O, et al.** Comparison of microRNA profiles between benign and malignant salivary gland tumors in tissue, blood and saliva samples: a prospective, case-control study. *Braz J Otorhinolaryngol.* **2016**; 1808-8694.
249. **Cinegaglia NC, Andrade SC, Tokar T, et al.** Integrative transcriptome analysis identifies deregulated microRNA-transcription factor networks in lung adenocarcinoma. *Oncotarget.* **2016**; 7:28920-34.
250. **Baffa R, Fassan M, Volinia S, et al.** Micro- RNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets. *J Pathol.* **2009**; 219:214-21.
251. **Wang P, Gu Y, Zhang Q, Han Y, Hou J, Lin L, Wu C, Bao Y, Su X, Jiang M, et al.** Identification of resting and type I IFN-activated human NK cell miRNomes reveals microRNA-378 and microRNA-30e as negative regulators of NK cell cytotoxicity. *J Immunol* **2012**; 189:211-221
252. **Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM.** Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate a large number of target mRNAs. *Nature* **2005**; 433:769-773.
253. **Cichocki F, Felices M, McCullar V, Presnell SR, Al-Attar A, Lutz CT, Miller JS.** Cutting edge: microRNA-181 promotes human NK cell development by regulating Notch signaling. *J. Immunol.* **2011**; 187:6171-6175.
254. **Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP.** MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* **2004**; 303:83-86.
255. **Ji J, Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Li C, Deng C, Wauthier E, Reid LM, Ye QH, et al.** Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells. *Hepatology* **2009**; 50:472-480.

256. Tekirdag KA, Korkmaz G, Ozturk DG, Agami R, Gozuacik D. MIR181A regulates starvation-and rapamycin-induced autophagy through targeting of ATG5. *Autophagy* **2013**; 9:374-385.
257. Shivdasani RA. MicroRNAs: regulators of gene expression and cell differentiation. *Blood* **2006**; 108:3646-3653
258. Gao W, Shen H, Liu L, Xu J, Xu J, Shu Y. MiR-21 over-expression in human primary squamous cell lung carcinoma is associated with poor patient prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol* **2011**; 137:557-566.
259. Pallasch CP, Patz M, Park YJ, Hagist S, Eggle D, Claus R, Debey-Pascher S, Schulz A, Frenzel LP, Claasen J, et al. miRNA deregulation by epigenetic silencing disrupts suppression of the oncogene PLAG1 in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2009**; 114:3255-3264.
260. Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, Ferracin M, Liu CG, Sabatino G, Negrini M, Maira G, Croce CM, Farace MG. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**; 334:1351-1358.
261. Shin KH, Bae SD, Hong HS, Kim RH, Kang MK, Park NH. MiR-181a shows tumor suppressive effect against oral squamous cell carcinoma cells by downregulating K-ras. *Biochem Biophys Res Commun* **2011**; 404:896-902.
262. Zhu W, Shan X, Wang T, Shu Y, Liu P. MiR-181b modulates multidrug resistance by targeting BCL2 in human cancer cell lines. *Int J Cancer* **2010**; 127:2520-2529.
263. Wang Y, Yu Y, Tsuyada A, Ren X, Wu X, Stubblefield K, Rankin-Gee EK, Wang SE: Transforming growth factor- β regulates the sphere-initiating stem cell-like feature in breast cancer through miRNA-181 and ATM. *Oncogene* **2011**; 30:1470-1480.
264. Zhang X, Nie Y, Du Y, Cao J, Shen B, Li Y. MicroRNA-181a promotes gastric cancer by negatively regulating tumor suppressor KLF6. *Tumour Biol* **2012**; 33:1589-1597.
265. Zhang P, Guo Z, Hu R, He X, Jiao X, Zhu X. Interaction between microRNA-181a and TNFAIP1 regulates pancreatic cancer proliferation and migration. *Tumour Biol*, **2015**.
266. Chen G, Shen ZL, Wang L, Lv CY, Huang XE, Zhou RP. Hsa-miR-181a-5p expression and effects on cell proliferation in gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* **2013**; 14:3871-3875.
267. Xue Q, Guo ZY, Li W, et al. Human activated CD4(?) T lymphocytes increase IL-2 expression by downregulating microRNA- 181c. *Mol Immunol*. **2011**; 48(4):592-9.
268. Zhang L, Dong LY, Li YJ, Hong Z, Wei WS. The microRNA miR-181c controls microglia-mediated neuronal apoptosis by suppressing tumor necrosis factor. *J Neuroinflamm*. **2012**; 6(9):211.

269. Zhang Y, Guo M, Xin N, Shao Z, Zhang X, Zhang Y, Chen J, Zheng S, Fu L, Wang Y, Zhou D, Chen H, Huang Y, Dong R, Xiao C, Liu Y, Geng D. Decreased microRNA miR-181c expression in peripheral blood mononuclear cells correlates with elevated serum levels of IL-7 and IL-17 in patients with myasthenia gravis. *Clin Exp Med*. **2016**; 16(3):413-21.
270. Cui M, Yue L, Fu Y, Yu W, Hou X, Zhang X. Association of microRNA-181c expression with the progression and prognosis of human gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* **2013**; 60:27.
271. Rio P, Agirre X, Garate L, Banos R, Alvarez L, San Jose-Eneriz E, Badell I, et al. Down-regulated expression of hsa-miR-181c in Fanconi anemia patients: implications in TNF- α regulation and proliferation of hematopoietic progenitor cells. *Blood* **2012**; 119:3042-3049.
272. Geng J, Liu Y, Jin Y, Tai J, Zhang J, Xiao X, Chu P, Yu Y, Wang SC, Lu J, Han S, Shi J, Guo Y, Ni X. MicroRNA-365a-3p promotes tumor growth and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*. **2016**; 35(4):2017-26.
273. Nie J, Liu L, Zheng W, Chen L, Wu X, Xu Y, Du X, Han W. microRNA-365, down regulated in colon cancer, inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis of colon cancer cells by probably targeting Cyclin D1 and Bcl-2. *Carcinogenesis* **2012**; 33:220-225.
274. Zhou M, Liu W, Ma S, Cao H, Peng X, Guo L, Zhou X, Zheng L, Guo L, Wan M, et al. A novel onco-miR-365 induces cutaneous squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* **2013**; 34:1653-1659.
275. Yan LX, Huang XF, Shao Q, Huang MY, Deng L, Wu QL, Zeng YX, Shao JY. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA* **2008**; 14:2348-2360.
276. Kang SM, Lee HJ, Cho JY. MicroRNA-365 regulates NKX2-1, a key mediator of lung cancer. *Cancer Lett*. **2013**; 335:487-94.
277. Guo SL, Ye H, Teng Y, Wang YL, Yang G, Li XB, et al. Akt-p53-miR-365-cyclin D1/cdc25A axis contributes to gastric tumorigenesis induced by PTEN deficiency. *Nat Commun*. **2013**; 4:2544.
278. Tian B, Huo N, Li M, Li Y, He Z. let-7a and its target, insulin-like growth factor 1 receptor, are differentially expressed in recurrent prostate cancer. *Int J Mol Med*. **2015**; 36(5):1409-16.
279. Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, Chen CY, Ebert MS, Sharp PA, Jacks T. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family. *Proc Natl Acad Sci USA* **2008**; 105:3903-3908.
280. Mayr C, Hemann MT and Bartel DP. Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation. *Science* **2007**; 315:1576-1579.
281. Kim HH, Kuwano Y, Srikantan S, Lee EK, Martindale JL and Gorospe M. HuR recruits let-7/RISC to repress c-Myc expression. *Genes Dev* **2009**; 23:1743-1748.

282. Zhao B, Han H, Chen J, Zhang Z, Li S, Fang F, et al. MicroRNA let-7c inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer by targeting ITGB3 and MAP4K3. *Cancer letters*. **2014**; 342:43-51.
283. Sempere LF, Christensen M, Silahdaroglu A, Bak M, Heath CV, Schwartz G, et al. Altered MicroRNA expression confined to specific epithelial cell subpopulations in breast cancer. *Cancer Res*. **2007**; 67:11612-11620.
284. Mi S, Lu J, Sun M, Li Z, Zhang H, Neilly MB, et al. MicroRNA expression signatures accurately discriminate acute lymphoblastic leukemia from acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2007**; 104:19971-19976.
285. Nadiminty N, Tummala R, Lou W, Zhu Y, Shi XB, Zou JX, et al. MicroRNA let-7c is downregulated in prostate cancer and suppresses prostate cancer growth. *PLoS One*. **2012**; 7:32832.
286. Ji J, Zhao L, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Qin LX, et al. Let-7g targets collagen type I alpha2 and inhibits cell migration in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. **2010**; 52:690-697.
287. Landi MT, Zhao Y, Rotunno M, Koshiol J, Liu H, Bergen AW, Rubagotti M, Goldstein AM, Linnoila I, Marincola FM, et al. MicroRNA expression differentiates histology and predicts survival of lung cancer. *Clin Cancer Res* **2010**; 16:430-441.
288. Childs G, Fazzari M, Kung G, Kawachi N, Brandwein-Gensler M, McLemore M, Chen Q, Burk RD, Smith RV, Prystowsky MB, et al. Low-level expression of microRNAs let-7d and miR-205 are prognostic markers of head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* **2009**; 174:736-745.
289. Helland Å, Anglesio MS, George J, Cowin PA, Johnstone CN, House CM, Sheppard KE, Etemadmoghadam D, Melnyk N, Rustgi AK, et al. Australian Ovarian Cancer Study Group: Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PLoS One* **2011**; 6:18064.
290. Trang P, Medina PP, Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, Homer R, Brown D, Bader AG, Weidhaas JB, Slack FJ. Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA. *Oncogene* **2010**; 29:1580-1587.
291. Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, Mercatanti A, Hammond S, Rainaldi G. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood* **2006**; 108, 3068-3071.
292. Kuehbach A, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ. Res*. **2007**; 101:59-68.
293. Landskroner-Eiger S, Moneke I, Sessa WC. miRNAs as modulators of angiogenesis. *Cold Spring Harbor Perspect. Med*. **2013**; 3.

294. Otsuka M, Zheng M, Hayashi M, Lee JD, Yoshino O, Lin S, Han J. Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice. *J. Clin. Invest.* **2008**; 118:1944-1954.
295. Li SQ, Zhu JG, Zhang WL, Chen YR, Zhang K, Popescu LM, Ma XL, Lau WB, Rong R, Yu XQ, et al. Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection. *Circulation* **2011**; 124:175-184.
296. Kin K, Miyagawa S, Fukushima S, Shirakawa Y, Torikai K, Shimamura K, Daimon T, Kawahara Y, Kuratani T, Sawa Y. Tissue- and plasma-specific MicroRNA signatures for atherosclerotic abdominal aortic aneurysm. *J. Am. Heart Assoc.* **2012**; 1.
297. Sempere LF, Christensen M, Silahdaroglu A, et al. Altered microRNA expression confined to specific epithelial cell subpopulations in breast cancer. *Cancer Res* **2007**; 67:11612-20.
298. Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA let-7a downregulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res* **2007**; 67:9762-70.
299. Lu L, Katsaros D, de la Longrais IA, Sochirca O, Yu H. Hypermethylation of let-7a-3 in epithelial ovarian cancer is associated with low insulin-like growth factor-ii expression and favorable prognosis. *Cancer Res* **2007**; 67:10117-22.
300. Nam S, Kim B, Shin S, Lee S. mirGator: an integrated system for functional annotation of microRNAs. *Nucleic Acids Res* **2008**; 36:159-64.
301. MicroRNA let-7: an emerging next-generation cancer therapeutic. Barh D, Malhotra R, Ravi B, Sindhurani P. *Curr Oncol.* **2010**; 17(1):70-80.
302. Huang CW, et al. Differential expression patterns of growth-related microRNAs in the skeletal muscle of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Anim Sci* **2012**; 90:4266-4279.
303. Zhao Y. et al. let-7 microRNAs induce tamoxifen sensitivity by downregulation of estrogen receptor alpha signaling in breast cancer. *Mol Med* **2011**; 17:1233-1241.
304. Jiang J, Lee EJ, Gusev Y, Schmittgen TD. Real-time expression profiling of microRNA precursors in human cancer cell lines. *Nucleic Acids Res* **2005**; 33:5394-403.
305. Chen KC, Hsieh IC, Hsi E, Wang YS, Dai CY, Chou WW, Juo SHH. Negative feedback regulation between microRNA let-7g and the oxLDL receptor LOX-1. *J. Cell Sci.* **2011**; 124:4115-4124.
306. Park H, Huang X, Lu C, Cairo MS, Zhou X. MicroRNA-146a and microRNA-146b regulate human dendritic cell apoptosis and cytokine production by targeting TRAF6 and IRAK1 proteins. *J Biol Chem* **2015**; 290:2831-2841.

307. Hou Z, Yin H, Chen C, Dai X, Li X, Liu B, Fang X. MicroRNA-146a targets the L1 cell adhesion molecule and suppresses the metastatic potential of gastric cancer. *Mol Med Rep* **2012**; 6:501-506.
308. Garcia AI, Buisson M, Bertrand P, Rimokh R, Rouleau E, Lopez BS, Lidereau R, Mikaélian I, Mazoyer S. Down-regulation of BRCA1 expression by miR-146a and miR-146b-5p in triple negative sporadic breast cancers. *EMBO Mol Med* **2011**; 3:279-290.
309. Liu R, Liu C, Chen D, Yang WH, Liu X, Liu CG, Dugas CM, Tang F, Zheng P, Liu Y, Wang L. FOXP3 controls an miR-146/NF- κ B negative feedback loop that inhibits apoptosis in breast cancer cells. *Cancer Res* **2015**; 75:1703-1713.
310. Pacifico F, Crescenzi E, Mellone S, Iannetti A, Porrino N, Liguoro D, Moscato F, Grieco M, Formisano S, Leonardi A. Nuclear factor- κ B contributes to anaplastic thyroid carcinomas through up-regulation of miR-146a. *J Clin Endocrinol Metab* **2010**; 95:1421-1430.
311. Kogo R, Mimori K, Tanaka F, Komune S, Mori M. Clinical significance of miR-146a in gastric cancer cases. *Clin Cancer Res* **2011**; 17:4277-4284.
312. O'Connell RM, Rao DS, Baltimore D. microRNA regulation of inflammatory responses. *Annu Rev Immunol.* **2012**; 30:295-312.
313. Löfgren SE, Frostegård J, Truedsson L, Pons-Estel BA, D'Alfonso S, Witte T, Lauwerys BR, Endreffy E, Kovács L, Vasconcelos C, Martins da Silva B, Kozyrev SV, Alarcón-Riquelme ME. Genetic association of miRNA-146a with systemic lupus erythematosus in Europeans through decreased expression of the gene. *Genes Immun.* **2012**; 13(3):268-74.
314. Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, Yang L, Zhao JL, Kalwani M, Garcia-Flores Y, Luong M, Devrekanli A, Xu J, Sun G, Tay J, Linsley PS, Baltimore D. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med.* **2011**; 208(6):1189-201.
315. Yang CR, Shih KS, Liou JP, Wu YW, Hsieh IN, Lee HY, Lin TC, Wang JH. Denbinobin upregulates miR-146a expression and attenuates IL-1 β -induced upregulation of ICAM-1 and VCAM-1 expressions in osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes. *J Mol Med (Berl).* **2014**; 92(11):1147-58.
316. Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, Okuhara A, Izumi B, Deie M, Suzuki O, Adachi N, Ochi M. MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients. *BMC Musculoskelet Disord.* **2010**; 11:209.

8. EKLER

8.1. Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Aile Onam Formu

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK ALLERJİ-İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI

ÇALIŞMASI BİLGİLENDİRME ve RIZA FORMU

‘Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısıyla Takip Edilen Hastaların Genel Özellikleri’

Sayın Veli,

Hastanız polikliniğimize başvurduğunda teşhis ve tedavi izlemi maksadıyla çocuğunuza yapılan incelemeler sırasında elde edilen klinik ve laboratuvar veriler Prof. Dr. Mustafa Yılmaz ve Dr. Emin Murat Karpuzoğlu'nun yürüttüğü bir çalışma kapsamında bilimsel amaç ile kullanılacaktır. Kişisel bilgileriniz gizli tutulacak, sorun saptanması halinde durum size bildirilecek ve alınması gereken önlemler konusunda ayrıntılı bilgilendirme yapılacaktır. Parasal bir bedel ödemenizi gerektirmeyen ve size de bir ödeme yapılması söz konusu olmayan bu çalışmaya katılmama ve katıldıktan sonra çekilme hakkınız bulunmaktadır. Bu hakları kullandığınız takdirde, hastaya uygulanan tıbbi hizmette hiçbir aksama olmayacaktır. İhtiyaç duyduğunuzda daha ayrıntılı bilgilendirme tarafımızca sözel olarak sizlere verilecektir.

Araştırmaya katılmayı kabul ediyorsanız aşağıdaki bölüme adınızı soyadınızı yazıp imzanızı atınız. İlginize teşekkür ederiz.

SÖZ KONUSU ARAŞTIRMAYA, YUKARIDA BELİRTİLEN KOŞULLAR ÇERÇEVESİNDE HİÇBİR BASKI VE ZORLAMA OLMAKSIZIN KENDİ RIZAMLA KATILMAYI KABUL EDİYORUM.

	HASTA	VELİ/VASI	ANNE	BABA	TANIK
ADI					
SOYADI					
TARİH					
İMZA					

8.2. Ek 2. Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısıyla Takip Edilen Hastalar İçin Veri

Toplama Formu

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ TANISIYLA TAKİP EDİLEN HASTALAR İÇİN VERİ TOPLAMA FORMU

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 1. ADI SOYADI: | 13. BAŞVURUDAKİ FM BULGULARI: |
| 2. CİNSİYETİ: | |
| 3. DOĞUM YERİ: | |
| 4. MEMLEKETİ: | |
| 5. TC KİMLİK NO: | 14. BAŞVURU LAB. DEĞERLERİ |
| 6. PROTOKOL NO: | 15. WBC: |
| 7. DOĞUM TARİHİ: | 16. HGB: |
| 8. TEL: | 17. HTC: |
| 9. HASTALIĞIN BAŞLANGIÇ YAŞI: | 18. PLT: |
| 10. BAŞVURU TARİHİ: | 19. ÜRİK ASİT: |
| 11. BAŞVURU ŞİKAYETLERİ: | 20. LDH: |
| 12. AİLE ÖYKÜSÜ,AKRABALIK: | 21. BUN: |
| | 22. KREATİNİN: |
| | 23. SEDİMENTASYON: |
| | 24. CRP: |
| | 25. FİBRİNOJEN: |
| | 26. AMİLOİD-A: |
| | 27. FMF MUTASYONLARI: |
| | 28. İDRARDA PROT: |
| | 29. İDRARDA GLUKOZ: |
| | 30. İDRARDA HÜCRE: |

31. UYGULANAN TEDAVİLER VE
SÜRESİ:

32. ORTALAMA KOLŞİSİN DOZU

33. ORTALAMA ATAK SÜRESİ:

34. KOLŞİSİN TEDAVİSİ ALTINDA
YILLIK ATAK SAYISI:

35. TEDAVİSİZ YILLIK ATAK SAYISI:

36. ABDOMİNAL ATAK:

37. ARTRALJİ:

38. ARTRİT:

39. PLEURİT:

40. SADECE ATEŞLE SEYREDEN ATAK:

41. EFORLA EKSTREMİTE AĞRISI:

42. KRONİK ARTRİT:

43. AYLIK İŞGÜCÜ KAYBI:

44. CROHN HAST:

45. ANKİLOZAN SPONDİLİT:

46. BEHÇET HAST:

47. HENOC SCHONLEİN PURPURA:

48. FMF İLİŞKİLİ DİĞER HASTALIKLAR:

49. EN SON KONTROL TARİHİ:

50. SON LAB. DEĞERLERİ

51. WBC:

52. HGB:

53. HTC:

54. PLT:

55. ÜRİK ASİT:

56. LDH:

57. BUN:

58. KREATİNİN:

59. SEDİMENTASYON:

60. CRP:

61. FİBRİNOJEN:

62. AMİLOİD-A:

63. İDRARDA PROT:

64. İDRARDA GLUKOZ:

65. İDRARDA HÜCRE: