



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

**AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ TANISI İLE
İZLENMEKTE OLAN ÇOCUKLARDA CYP3A4, CYP2D6
VE MDR1 GEN VARYANTLARININ HASTALIK
ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Büşra BİLİM TÜRKCAN

Antalya, 2019



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

**AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ TANISI İLE
İZLENMEKTE OLAN ÇOCUKLARDA CYP3A4, CYP2D6
VE MDR1 GEN VARYANTLARININ HASTALIK
ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Büşra BİLİM TÜRKCAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Elif ÇOMAK

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2019

Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2018-3838)

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince edindiğim bilgi ve beceriyi kazanmamdaki yardım ve hoşgörülerini için Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Fırat KARDELEN'e,

Her konuda bana yardımcı olan, beni her zaman akademik anlamda destekleyen ve teşvik eden, tez sürecim boyunca desteğini hep yanımda hissettiğim, üstün sabrı ve hoşgörüsü ile insanlık adına da çok şey öğrendiğim sayın danışman hocam Doç. Dr.Elif ÇOMAK'a,

Tezin her aşamasında değerli fikirleriyle katkı sağlayan hocalarım Prof. Dr. Sema AKMAN ve Prof. Dr. Mustafa KOYUN'a; çocuk nefroloji poliklinik hemşire ve sekreter arkadaşlarıma,

Tezimin hazırlanmasında ve laboratuvar çalışmalarıyla ilgili aşamasında sağladığı büyük katkılar ve yardımları için sayın Dr. Öğr. Üyesi Aslı TOYLU'ya ve genetik laboratuvarı çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimime başladığım ve büyük bir kısmını tamamladığım, bana çok büyük katkılar sağladığını bildiğim ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim Marmara Pediatri aileme,

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman büyük bir sabır ve hoşgörü ile davranan, bilgilerinden çok şeyler kazandığım tüm değerli hocalarıma; beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, sekreterlere, hemşirelere ve personellere,

Desteğiyle her zaman yanımda olan, hep başaracağıma inanan, bugünlerimin mimarı olan canım annem, biricik kardeşlerim ve babama; yol arkadaşım sevgili eşim Ali'ye,

Hem annelik duygusunu yaşamamı sağlayan hem de iyi bir çocuk doktoru olabilmeyi onunla daha iyi anladığım güzel kızım Berenim'e,

Teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Tablolar Dizini	vi
Şekiller Dizini	viii
Resimler Dizini	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Patogenez	4
2.1.4. Genetik	5
2.1.5. Klinik Bulgular	7
2.1.6. Amiloidoz	10
2.1.7. Laboratuvar Bulguları	12
2.1.8. Tanı ve Ayırıcı Tanı	12
2.1.9. Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi	14
2.1.10. Tedavi	15
2.2. Kolşisin	17
2.2.1. Kolşisin Tarihçesi	17
2.2.2. Kolşisin Farmakokinetiği	17
2.2.3. Kolşisin Etki Mekanizması	20
2.2.4. Kolşisin Kullanım Dozu ve Yan Etkileri	21
2.2.5. Kolşisin Direnci	22
2.2.6. Kolşisinin Tedavide Kullanıldığı Diğer Hastalıklar	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Hasta Tanımı ve Sayısı	24
3.2. Laboratuvar Değerlendirmesi	26
3.3. İstatistiksel Analiz	28

4. BULGULAR	29
4.1. Klinik ve Demografik Özellikler	29
4.2. MDR1 Varyantlarının Değerlendirilmesi	34
4.3. CYP2D6*4 ve *3 Varyantlarının Değerlendirilmesi	38
4.4. CYP3A41B Varyantlarının Değerlendirilmesi	40
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
7. ÖZET	50
8. ABSTRACT	53
9. KAYNAKLAR	56
10. EKLER	64
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı	64
Ek 2. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	65
Ek 3. Anamnez Formu (AAA Tanılı Hastalarda Hastalık Şiddeti Ve İlişkili Faktörlerin Değerlendirilmesi)	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin Bazı
AA	Amiloid A
AAA	Ailevi Akdeniz Ateşi
EDTA	Etilen Diaamino Tetra Asetik Asit
FMF	Familial Mediterranean Fever
G	Guanin Bazı
Het	heterozigot
IL-1β	İnterlökin-1 Beta
ISSF	International Severity Scoring System for Familial Mediterranean Fever
JIA	Juvenil İdiopatik Artrit
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
Mut	Mutant
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S	Sitozin Bazı
SAA	Serum Amiloid A
T	Timin Bazı
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör-Alfa
WT	Wild Type

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Hashomer tanı kriterleri	13
2.2. Livneh ve arkadaşlarının tanı kriterleri	13
2.3. Türk AAA Pediatrik Tanı Kriterleri	14
2.4. ISSF skrolama	15
2.5. Sitokrom P450 enzim sistemi üzerine etki eden ilaçlar	20
2.6. Kolşisin tedavide kullanıldığı diğer hastalıklar	23
4.1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri	29
4.2. Hastaların bölgelere göre dağılımı	30
4.3. Hastaların klinik özellikleri	31
4.4. Kolşisin dozu ve görülen yan etkiler	32
4.5. MEFV mutasyon dağılımı ve klinik özellikler	33
4.6. MEFV mutasyon dağılımı ile cinsiyet ve kolşisin ilişkisi	34
4.7. Hasta ve kontrol grubundaki MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı	35
4.8. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve klinik özelliklerin karşılaştırılması	36
4.9. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve kolşisin doz (mg/m ²) ilişkisi	37
4.10. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve kolşisin doz (mg/m ²) ilişkisi	37
4.11. MDR1 c.3435C>T allel dağılımı ve kolşisin doz ilişkisi	37
4.12. MDR1 c.3435C>T allel dağılımı ve kolşisin direnci ilişkisi	37

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.13. Hasta ve kontrol grubundaki CYP2D6*4 varyant dağılımı	38
4.14. CYP2D6*4 varyant dağılımı ile klinik özelliklerin karşılaştırılması	39
4.15. A ve G allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi	39
4.16. A-G allel dağılımı ve kolşisin (mg/m ²) doz ilişkisi	40
4.17. Kolşisin dozu (mg/kg/gün) ve CYP2D6*4 varyant dağılımı ilişkisi	40
4.18. CYP3A41B -392A>G varyant dağılımı	41
4.19. CYP3A41B -392A>G allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi	41
4.20. CYP3A41B -392A>G allel dağılımı ile kolşisin dozu (mg/m ² /gün) ilişkisi	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. MEFV mutasyon dağılımı	6
2.2. Kolşisin ve IL-1 karşıtlarının (anakinra, kanakinumab, rilonasept) etki mekanizması	16
2.3. CYP3A4 ve P-gp, kolşisin metabolizmasında yer alan temel proteinlerdir	18
2.4. Kolşisin metabolizması ve etkili ilaçlar	19

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. MDR1 c.3435C>T, CYP3A41B c.-392G>A ve CYP2D6 c.1846G>A (*4)- c.2549Adel (*3) varyantları erime eğrileri ve erime sıcaklıkları	27

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA), doğal bağışıklık sistemi bozukluklarından kaynaklanan monogenik otoinflamatuvar sendromlardan birisidir. Patojeni tanıyan reseptörlerdeki (pattern-recognition receptors, PRRs) bozuklukların otoinflamatuvar sendromların gelişiminde rol aldığı bilinmektedir. Patojen tanıyan reseptörler, enfeksiyon gibi dış etkenler (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) ya da stres gibi iç etkenler (damage-associated molecular patterns, DAMP) tarafından tetiklenebilirler ancak uyaran bittikten sonra inflamasyonun sonlanmaması patolojik süreçlerin gelişmesine yol açmaktadır (1).

Otozomal resesif olarak kalıtılan AAA hastalığı MEFV (MEditerranean FeVer) geni mutasyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. En sık görüldüğü toplumlar Türkler, Aşkenazi Yahudileri, Araplar, Ermeniler ve İtalyanlar olarak bildirilmiştir. AAA patogenezinde MEFV gen ürünü olan “pyrin/marenostrin” proteininin bozulmuş fonksiyonu sorumlu tutulmaktadır. Pyrin proteini özellikle olgun nötrofillerin sitoplazmalarında yer alır ve mikrotübül stabilizasyonunda, inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde ve apoptozisde rol alır. Pyrin proteini ayrıca inflamasyonun ana düzenleyici sitokini olan İnterlökin 1-beta'yı aktifleştiren kaspaz-1 enzimini baskılar. Mutasyon varlığında sentezlenen varyant pyrin proteini, inflamasyonu baskılayıcı fonksiyonlarını yerine getiremez ve dolayısıyla süre gelen inflamasyon sonucunda hastalığın klinik bulguları ortaya çıkar (1,2).

AAA, tipik olarak tekrarlayan ateş ve eşlik eden periton, plevra, eklem ve/veya cildi tutan inflamasyon atakları ile karakterizedir. Ataklar arasında hasta genellikle tamamen iyidir. Atak süresi 12-72 (96) saat, sıklığı ise çoğunlukla 2 hafta ile 2 ay arasında değişmektedir. Hastalığın tanısında klinik bulgular, aile hikayesi ve genetik değerlendirmeler birlikte kullanılır (2).

AAA tanısı için geliştirilmiş olan Tel-Hashomer kriterleri yetişkinlerde halen kullanılmaya devam etmektedir (3). Çocuklarda AAA tanısı için kullanılmak üzere Yalçınkaya ve arkadaşları tarafından “Türk Pediatri AAA Tanı Kriterleri” olarak adlandırılan yeni bir tanım oluşturulmuştur. Bu parametreler

için iki kritere sahip olunması durumunda duyarlılığı %94 ve özgüllüğü %85 olarak belirlenmiştir (4).

Tedavide kullanılan ve bir güz bitkisi derivesinden elde edilen kolşisin temel ilaçtır. Kolşisin CYP450 enzim ailesi ile metabolize edilir ve MDR1 transport proteini ile hücre içine taşınarak etki gösterir. Etki mekanizmasındaki temel özellik inflamasyonu baskılamasıdır (5). Oral yolla alınan kolşisin jejunum ve ileumdan emilir. Karaciğerde metabolize olur; çoğunluğu safra yoluyla gaitayla, %10-20'si ise böbreklerle atılır (6).

Çocuk hastalar için önerilen kolşisin tedavi dozları arasında belirgin farklılıklar vardır. Kolşisin tedavi yanıtında ve yan etki sıklığında karşılaşılan bireysel farklılıkların, son yapılan çalışmalarda kolşisini metabolize eden enzim varyantları ile ilişkili olabileceğini düşündüren bilgiler elde edilmiştir (5). Ancak genetik varyantlar ve tedavi cevabı hakkında literatürde göreceli olarak kısıtlı sayıda hastayı içeren, hastaların klinik özelliklerinin tam olarak tanımlanmadığı az sayıda araştırma bulunmaktadır. Literatürdeki çalışmaların hiçbirinde hastalık şiddeti ile ilgili valide edilmiş skor kullanılmamıştır. Araştırmamızda kullandığımız Demirkaya ve arkadaşlarının oluşturduğu, hastalık şiddet skoru değerlendirme yöntemi olan “international severity scoring system for familial Mediterranean fever (ISSF)” en çok kabul görendir (7).

Bu araştırmada, Çocuk Nefroloji Kliniğimizde AAA tanısı ile takip edilmekte olan hastalarda hastalık şiddeti ve kolşisin yanıtı ile kolşisin metabolizmasında önemli yere sahip olan CYP3A41B, CYP2D6 ile MDR1 geni varyantları arasındaki ilişki değerlendirildi. Tüm bu yapılanlar ışığında bireye özgü ilaç dozu belirlenerek kolşisin yan etkilerinin azaltılması ve ilaç etkinliğinin arttırılması hedeflendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ailesel Akdeniz Ateşi

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) kendini sınırlayan tekrarlayıcı ateş ve serözit atakları ile seyreden, otozomal resesif kalıtılan ve tüm dünyada en sık görülen monogenetik otoinflamatuvar hastalıktır (2,8).

2.1.1. Tarihçe

AAA, kalıtsal tekrarlayan ateş sendromları içinde en sık görülen ve üzerinde en çok çalışma yapılan hastalıktır (9).

Dünya literatüründe ilk kez 1908 yılında Janeway ve Mosenthal tarafından, tekrarlayan ateş, abdominal ağrı ve lökositozu olan 16 yaşında bir Yahudi kız olgu yayınlanmış ve paroksizmal hastalık olarak bildirmiştir (10). İlk hasta serisi ise 1945 yılında Siegal tarafından, kendisi ile aynı semptomları taşıyan 10 Yahudi hastayı içeren 'Benign Paroksizmal Peritonitis' ismi ile bildirilmiştir (11). Heller ve Sohar 1958 yılında ilk kez 'Ailevi Akdeniz Ateşi' tanımını kullanmışlar ve aynı araştırmacılar tarafından 1961 yılında hastalığın otozomal resesif kalıtıldığı gösterilmiştir Ülkemizde ise ilk FMF hastası 1946 yılında Abrevaya Marmaralı tarafından 'Garip Bir Karın Ağrısı Sendromu' adı ile bir erişkinde tanımlanmıştır (12). Tedavi için ise 1972'de benzer zamanlarda Boston'dan S.E. Goldfinger 5 hastada ve E. Özkan İstanbul Üniversitesi'nden 14 hastada kolşisini denemişlerdir ve tedavi yanıtı almışlardır (13).

Pras ve arkadaşları (14) 1992 yılında AAA'ya yol açan genin 16. kromozomun kısa kolunda olduğunu saptamışlardır. 1997 yılında ise AAA geninin yer aldığı bölge iki farklı araştırma grubu tarafından (International FMF Consortium ve French FMF Consortium) eşzamanlı ve birbirinden bağımsız olarak 16. kromozomda belirlenmiştir. MEFV genin 16. kromozomun kısa kolunda yer aldığı ve 781-aa içeren pyrin/marenostrin adı verilen proteini kodladığı gösterilmiştir (15,16). Kolşisin kullanımı ile birlikte sorumlu genin tanımlanması hastalığın anlaşılması ve yönetiminde önemli bir basamaktır (16,17).

2.1.2. Epidemiyoloji

FMF esas olarak Akdeniz'de yaşayan insanları etkilemesine rağmen, yirminci yüzyılda seyahat ve göç nedeniyle dünya çapında da görülmektedir. Günümüzde AAA tanısı konusunda artan sıklık, gelişen moleküler çalışmalar sayesinde hastalığı daha iyi anlamak ile de ilişkilidir.

En yüksek sıklık 1/400 ile 1/1000 oranı ile Türkiye'dedir, Yahudiler ve Ermeniler diğer sık görülen topluluklardır, 1/1000 sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir (18).

Türk AAA çalışma grubunun yaptığı büyük bir araştırmada AAA vakalarının %70'inin İç Anadolu, Orta Karadeniz ve Doğu Anadolu kökenli olduğu saptanmıştır, bilinenin aksine Akdeniz dışı bölgelerde daha sık görülmesini göçler ve çalışmaya alınan hasta gruplarının yer aldığı bölgelerin homojen olmaması ile ilişkilendirmişlerdir (19).

2.1.3. Patogenez

AAA, MEFV (MEditerranean FeVer) mutasyonlarından kaynaklanır. MEFV geni 16. kromozom kısa kolunda yer alır (16p13.3) ve 1997 yılında iki farklı konsorsiyumlar (International FMF Consortium ve French FMF Consortium) tarafından klonlanmıştır, 3505 nükleotid içermekte ve 10 ekzondan oluşmaktadır (15,16). MEFV geni, doğal immün sistemde önemli rol oynayan, Amerikalıların Pyrin (Latince pyrexia: ateş düzenleyen protein), Fransızların Marenostin (Latince Mareo nostrum: Akdeniz'in eski adı) adını verdikleri 781 aminoasitlik 'pyrin/marenostin' proteinini kodlar. Bu proteinin bozulmuş fonksiyonu tam açıklanamamakla birlikte AAA patogenezinde yer almaktadır.

MEFV geninin ürünü olan pyrin çoğunlukla nötrofillerden ve eozinofil, monosit, dentritik hücreler ile sinovial fibroblastlarda sentezlenir. Özellikle olgun nötrofillerin sitoplazmalarında ve mikrotubuluslarda yerleşir. Mikrotubulus stabilizasyonunda, inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde ve apoptoziste rol alır (9). IL-1 β üretimi için gerekli olan hücre içi bir inflamatuvar kompleks olan Nod benzeri reseptör proteini 3 (NLRP3)'ün bir parçasıdır. Bu nedenle AAA, bir inflamazomopati olarak da isimlendirilebilir (1). Pyrin hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sisteminde rol almaktadır. NALP3 çeşitli uyaranlar (stres,

enfeksiyonlar gibi) ile uyarıldığında IL-1 betanın aktive olmasını sağlar. Pyrin inflamasyonun ana sitokini olan İnterlökin 1-beta'yı aktiveleyen bu yolağı inhibe eder fakat mutant gen sonucu ortaya çıkan pyrin inflamasyonu baskılayamaz. Devam eden inflamasyon sonucu olarak klinik bulgular görülür (2). Pyrin ile inflamatuvar bir adaptör protein olan apoptoz ilişkili speck benzeri protein (apoptosis-associated speck-like protein-ASC) etkileşime girdiğinde, kaspaz1 aktivasyonu meydana gelir ve IL-1 β salınır (20). Booty ve arkadaşları tarafından AAA hastalarında kontrol grubunda yer alanlara göre göre pyrin miktarında artış olduğunu gösterilmiştir (21). Bir başka çalışmada ise fonksiyon kazandıran varyasyon tipini (gain-of function) destekler vasıfta AAA ile ilişkili mutasyonların knock-in edildiği farelerde, pyrin eksikliği olanlara göre daha şiddetli spontan inflamatuvar klinik ortaya çıkmıştır. Papin ve arkadaşları ise pyrin yıkımının kaspaz1 uyarımını ve IL-1 β salınımını arttırdığını göstermiştir (22). Başka çalışmada ise fonksiyon kaybı modelini (loss-of-function) gösterecek şekilde, MEFV geni eksik olan fare suşunda, inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak makrofajlardan IL-1 β salınımının arttığı gösterilmiştir (23). MEFV mutasyonlarının fonksiyon kaybına mı yoksa kazanımına sebep olduğu hala tartışmalı bir konudur.

2.1.4. Genetik

Otozomal resesif kalıtım paternine uygun olarak AAA, homozigot tek mutasyon ya da heterozigot 2 farklı mutasyon varlığında görülmektedir. Mutasyonların büyük çoğunluğu missense değişikliktir. AAA hastalarının %80'inde görülen mutasyonlar; Şekil 2.1'de gösterildiği gibi ekzon 2 ve ekzon 10 mutasyonlarıdır (8). Ancak her zaman bu kadar basit olmayabilir. Bazen 726 valin yerine alanin rezidüsü (V726A) ve 148 glutamik asit yerine glutamin değişimi (E148Q) gibi bazı mutasyonlar “**Cis**” pozisyonunda bulunabilir ve bu durumda kompleks mutasyon olarak adlandırılır (19). Sonuç olarak bazı hastalarda 3 hatta 4 mutasyon saptanabilir. E148Q, P369S ve R408Q mutasyonları cis olarak kalıtılır, bazı toplumlarda daha fazla görülmekle beraber genel olarak %1 sıklıkta görülür. Bu durumda fonksiyonel polimorfizmden söz edilebilir (24).

Günümüze kadar 340 MEFV gen varyasyonu tanımlanmış ve bunlardan 205 tanesinin AAA klinik bulguları ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (Infevers veri tabanı, <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/search.php?n=1>, 2019). Türkiye’de en sık görülen mutasyonlar M694V, M680I, V726A ve E148Q’dur (25). Son yapılan çalışmalarda gösterilmiş ki ekzon 2 mutasyonu olarak bilinen R202Q değişikliği de AAA tanılı hastalarda oldukça sıktır. Sağlıklı toplum ile AAA tanılı hastalar arasında R202Q değişikliği görülme sıklığını karşılaştıranlar çalışmalarda AAA tanılı hastalarda R202Q değişikliğinin daha sık olduğu bulunmuş (26). 199 hastanın demografik özelliklerinin ve mutasyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada R202Q mutasyonu M694V den sonra ikinci sıklıkta görülen mutasyon olarak dikkat çekmektedir (27).

AAA’lı hastaların aile taramalarında asemptomatik bireylerde mutasyonların iki alelde de taşınabildiği gösterilmiş ve farklı araştırmacılar tarafından farklı öneriler ortaya konulmuştur (8). Bir grup araştırmacı AAA kliniği ortaya çıkmamış olsa bile özellikle M694V homozigot olması gibi amiloidozla ilgili olduğu düşünülen durumların tedavisini, diğer bir grup araştırmacı ise tedavisiz izlemine önermektedir (28). Daha çok kabul gören görüş ise klinik bulguların ve aile öyküsünün mutasyon analizinden daha önemli olduğu, genetik tanının destekleyici unsur olduğu yönündedir.

Ekzon	1	2	3	4	5	6-8	9	10
Patojenik varyantlar	E167D T267I							M694V* V726A* M680I* M694I* R761H* A744S* 1692del*
Tanımlanmamış değişiklikler	E148Q*		P369S		F479L		I591T	K695R

*en sık görülen mutasyonlar

Şekil 2.1. MEFV mutasyon dağılımı (8)(17)(17)(17)(17)(17)(17)(17)(17)

Genotip- fenotip ilişkisi

AAA hastalarında klinik özelliklerin ve hastalık şiddetinin birbirinden farklı olması genotip-fenotip ilişkisinin önemini arttırmıştır. Mutasyon tipinin klinik bulgular ve gelişecek komplikasyonlarda etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir ancak AAA'da fenotip-genotip korelasyonu tam olarak ortaya konamamıştır (2). Türk AAA çalışma grubunun 2838 AAA tanılı hastada yaptığı çalışmada genotip-fenotip ilişkisini değerlendirdiğinde; M694V/M694V genotipine sahip olan grupta hastalığın daha erken yaşta başladığını, artralji yakınmasının ve artrit bulgusunun diğer genotipe sahip bireylere göre daha sık görüldüğünü göstermiştir. Ancak amiloidoz dahil diğer semptomlar ve bulgular açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (19).

Fenotip üzerine sadece genotipin değil çevresel faktörlerin ve modifiye genlerin de etkili olduğu gösterilmiştir. Klinik gidişatta emosyonel ve fiziksel stres artışı, soğuk maruziyeti, diyet alışkanlıkları, ilaçlar ve enfeksiyonların atak gelişimini tetiklediği düşünülmektedir (29). Farklı coğrafyalarda yaşayan aynı etnik gruplarda dahi klinik gidiş ve gelişen komplikasyonlar farklılık göstermektedir. Amerika'da yaşayan Ermeni kökenli AAA'lılarda, Ermenistan'da yaşayanlara göre daha düşük oranda amiloidoz geliştiği ve hastalığın daha hafif seyrettiği gösterilmiştir (29). Monozigotik ve dizigotik ikizlerde de gösterilmiş ki çevresel faktörlerin ve modifiye edici genlerin fenotip üzerinde rölatif katkısı vardır. M694V ile amiloidoz ilişkisi hakkında yapılan araştırmalar sonucunda M694V homozigot genotipin amiloidoz için risk olduğunu gösteren çalışmaların yanında (30) genotipten farklı olarak çevresel faktörlerin de amiloidoz gelişiminde etkili olduğunu gösteren çalışmalar da oldukça fazladır (31).

2.1.5. Klinik Bulgular

Çocukluk çağı hastalığı olarak bilinen AAA, tipik olarak tekrarlayan ateş ve periton, plevra, eklem ve(veya cildi tutan inflamasyon atakları ile ortaya çıkar. Hastaların %90'ı 20 yaş altındadır (2). Araştırmalar hastalığın başlangıcının 9 yaş ve 16 yaş civarında iki defa pik yaptığını göstermiştir, görülme sıklığına bakıldığında cinsiyet açısından fark yoktur (19). Erken yaşta bulgu veren gruptaki hastalar genellikle sık görülen toplumlarda yer almaktadır. Bu dağılımı sık

görülen toplumlardaki pediatristlerin farkındalığının fazla olması ile ilişkilendirmek de mümkündür (32).

AAA hastaları ataklar arasında genellikle tamamen iyidir. Atak süresi 12-72 saat devam edebilmekte ve sıklığı haftada bir sıklıktan uzun aylar boyunca görülebilen tek atak şeklinde değişkenlik göstermektedir (2). En sık görülen bulgu karın ağrısıdır, bunu ikinci sıklıkla ateş seyreder. Özellikle okul öncesi çocuklarda ateş bazen tek bulgu olabilir. Artrit, miyalji gibi yakınmalar daha uzun sürede gerileyebilir (19). Genellikle benzer şekilde ortaya çıkan ataklar görülse de ataklar hem aynı bireydeki farklı epizodlarda hem de farklı bireyler arasında değişiklik gösterebilir.

Hastaların yaklaşık yarısında prodromal dönem vardır, çeşitli fiziksel belirtilerle beraber anksiyete, sinirlilik, iştahsızlık bu dönemde görülen yakınmalar arasındadır.

Ateş

Hemen her atakta görülen en önemli ve sık klinik bulgulardandır. Ateş genellikle 38°C'nin üzerindedir. Ortalama 24-72 saat devam etmektedir. Hızlıca yükselir, plato çizer ve hızlı bir şekilde düşer. Nadir de olsa 3 günden uzun süren olgular ya da ateşin eşlik etmediği ataklar bildirilmiştir. Çocukta ateş tek bulgu da olabilir (33).

Gastrointestinal sistem bulguları

Periton inflamasyonu nedeni ile ortaya çıkan karın ağrısı en sık klinik bulgudur. Hastaların %90'ından fazlasında görülür (34). Ağrı karında herhangi bir alanda başlayıp yayılır. Ağrıya beraber hastalar fleksiyon pozisyona gelemmez. Fizik muayenede peritonit nedenli karında hassasiyet, sertlik, barsak seslerinde azalma, defans, rebound görülebilir. Tanımlanan fizik muayene bulguları ile direkt grafide hava-sıvı seviyesi ve laboratuvarında lökositozun görülmesi hastalığın akut karın yapacak cerrahi nedenlerle karışmasına yol açabilir. Genelde barsak hareketlerinde azalma olmakla beraber %10-20 hastada ataklar sırasında ishal görüldüğü bildirilmiştir (35). Karın ağrısı yakınması genelde 6-12 saatte belirginleşerek, 48-72 saat içerisinde tamamen geriler. Hastaların bir kısmı akut

karın nedeni ile gereksiz cerrahi girişimlere maruz kalmaktadır. 1880 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada AAA tanısı almadan akut karın ile başvuranlarda cerrahi girişim oranı %90 civarında bulunmuş, AAA tanısı ile başvuranlarda ise bu oran %10 olarak saptanmış. Aynı çalışmada gösterilmiş ki tanı aldıktan sonra cerrahi geçiren hastaların çoğu akut apandisitten ziyade ileus nedeni ile opere edilmiş (32). Türkiye’de yapılan bir çalışmada her 5 AAA tanılı hastadan birinin akut batın nedeni ile opere edildiği gösterilmiş. AAA tanısı alan hastalarda elektif apendektomi yapılabileceğini söyleyenler olsa da cerrahi girişimin peritoneal yapışıklıkları arttıracığı göz önünde bulundurulduğunda böyle bir profilaktik girişim önerilmemektedir. Ataklar sırasında ortaya çıkan peritoneal serbest sıvı yoğun miktarda fibrin ve polimorfnüveli lökosit içermektedir. Bu içerik nedenli mekanik barsak obstrüksiyonlarının ortaya çıktığını gösteren çalışmalar vardır (2,33,35).

AAA ve splenomegali birlikteliği %10-60 oranında bildirilmiştir. Ortaya çıkan splenomegali inflamasyona sekonder oluşan reaktif değişiklikler ya da amiloid birikiminin sonucu olarak görülmektedir. Mevcut inflamasyona yanıt olarak periferik ve abdominal lenfadenopati görülebilmektedir. Lenfadenopati nedeni ile tanısal amaçlı yapılan biyopsilerde nonspesifik lenfoid hiperplazi olduğu gösterilmiştir (35). Hepatomegali ise AAA tanılı hastalarda %5 oranında görülen bir bulgudur.

Eklem ve kas bulguları

Artrit ve artralji yaygın görülen klinik semptomlardandır. Artralji artrit oranla daha sık görülmektedir. Artrit ise %20-70 oranında görülür ve genellikle çocukluk çağında başlar. Monoartrit şeklinde ortaya çıkar ve sıklıkla alt ekstremitelerde lokalizedir. Nadiren üst ekstremitelerde de artrit olabilir. Eklem sıvısı septik artrit benzer şekilde pürülan ve bulanıktır, çok sayıda nötrofil içerir. Genellikle sekel bırakmadan düzelir. Kronik artrit çocukluk yaş grubunda nadir görülür, çoğunlukla yetişkinde saptanır ve sekel bırakmaktadır (2,36).

Kas ağrıları ataklar sırasında görülen yakınmalardan biridir. %20 hastada görülmekle beraber egzersiz ile ortaya çıkar, dinlenmekle iyileşir. Nadiren nonsteroidal antiinflatuvar ilaçlara gereksinim olur. Febril miyalji ise daha

nadir görülen, ciddi ağrı nedeni olan ve kortikosteroit tedavisi gerektiren bir klinik bulgudur. Febril miyaljiyi kolşisin nedenli ortaya çıkan ve nadiren görülen miyopatiden ayırt etmek önemlidir. Yüksek akut faz reaktanları ve EMG ile gösterilen inflamasyon, kolşisin kaynaklı nedeni dışlamaya yardımcıdır (2).

Cilt bulguları

Cilt bulguları sinoviyal ve serozal bulgulara göre daha az sıklıkta görülmektedir. En sık rastlanan cilt bulgusu olan erizipel benzeri eritem genellikle uzun bacakların veya ayak bileğinin dorsal yüzüne yerleşir. Kırmızı renkli, deriden kabarık, hassas, sıcak plaklar şeklindedir. İstirahat ile 48-72 saat içerisinde kendiliğinden gerilemektedir (37).

Plevra tutulumu

Plevra inflamasyonuna bağlı ortaya çıkan tek taraflı, genellikle ateşin eşlik ettiği göğüs ağrısı şeklinde klinik bulgu verir. Görülme sıklığı %15-54 aralığındadır. Nadiren plevral efüzyon eşlik edebilmektedir (2).

Diğer bulgular

Perikardit, perikard inflamasyonu ile ortaya çıkan, göğüs ağrısı ile klinik bulgu veren nadir görülen (%0,8) bir bulgudur.

Testis tutulumu özellikle prepubertal çocuklarda tek taraflı ağrı ile kendini gösterir.

Vaskülitler (HSP, PAN, mikroskobik PAN, Behçet, Glomerulonefritler) normal popülasyona göre AAA tanısı alan hastalarda daha sık görülmektedir (38).

2.1.6. Amiloidoz

Amiloidoz, proteinüri ile başlayarak yaklaşık 10 yılda son dönem böbrek yetmezliğine giden bir klinik tablodur. Tedavisiz olgularda 40 yaşından önce kronik böbrek yetmezliği geliştiği bilinmektedir (39). Geçmişte amiloidoz, AAA tanılı hastalarda sık bir komplikasyon olarak ortaya çıkmaktaydı. Ancak son yapılan çalışmalar kolşisin tedavisi ile beraber amiloidoz görülme sıklığının belirgin oranda azaldığını göstermektedir.

Amiloidozda amiloid birikimi sadece böbreklerde değil dalak, karaciğer, adrenal bezler, tiroid bezleri gibi diğer organlarda da ortaya çıkmaktadır (1).

AAA hastalarında gelişen amiloidoz, AA tipi amiloid fibrillerinden oluşur. Amiloid A proteini, karaciğer tarafından sentezlenir ve SAA'nın bir yıkım ürünüdür. SAA, yüksek dansiteli bir lipoproteinin komponenti (apoprotein) olan büyük bir öncül proteindir. Aynı zamanda bir akut faz reaktanıdır. SAA1 ve SAA2, sekonder amiloid plaklarının ana komponenti olan AA1 ve AA2'nin serum prekürsörleridir. Uzun süren doku yıkımı ve inflamasyon, SAA seviyelerinin yükselmesine yol açmaktadır. SAA'nın uzun süre plazmada yüksek konsantrasyonda bulunması sonucu ürünü olan AA proteini dokularda birirmektedir. Ancak SAA'nın artmış konsantrasyonu amiloidoz gelişimini açıklamak için yeterli değildir. Amiloidoziste SAA gen polimorfizmlerinin de rolü olduğu düşünülmektedir. Ülkemizden yapılan bir araştırmada amiloid geliştiren AAA hastalarının %50'sinde M694V mutasyonunun homozigot formda olduğu, amiloid geliştirmeyen AAA hastalarında bu oranın %36'ya kadar düştüğü görülmüştür (40). Aynı çalışmada, amiloid geliştiren AAA hastalarının %74'ünde SAA1 geninde α/α polimorfizmi bulunurken, amiloid geliştirmeyen AAA hastalarında bu oranın %21'e düşmesi MEFV geninde M694V mutasyonunun homozigot formda oluşu ve SAA1 geninde α/α polimorfizminin bulunmasının AAA hastalarında amiloid gelişimine yatkınlık için risk faktörü olduğu görüşünü ortaya çıkarmıştır (40).

Türkiye'den AAA çalışma grubunun 2436 hastayla yaptığı değerlendirme sonucunda 316 hastada amiloidoz saptanmıştır. Geç tanı almış olmak ve pozitif aile öyküsü olan hastalarda amiloidoz görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur. Genotip ile amiloidoz ilişkisine bakıldığında ise M694V homozigot genotoipin diğer çalışmaların (41) aksine amiloidoz gelişimi için tek başında artan risk oluşturmadığı gösterilmiştir (19).

Kolşisinin amiloidoz gelişimini engellediği bilinmektedir, bu nedenle tedaviye uyumsuzluk da amiloidoz gelişimi için önemli bir risk oluşturmaktadır (2).

2.1.7. Laboratuvar Bulguları

Atak esnasında yükselmiş akut faz reaktanları (c-reaktif protein, eritrosit sedimantasyon hızı, lökositoz, serum amiloid a, fibrinojen) tanıda yol göstericidir. Ataklar arasında da bu serum proteinlerinin yüksek seyretmesi subklinik inflamasyonun devam ettiğinin göstergesi olacağından amiloidoz gelişimini ön görmek için yol gösterici olabilir (42).

2.1.8. Tanı ve Ayırıcı Tanı

AAA tanısında klinik bulgular, aile öyküsü, etnik köken ve destekleyici olarak da genetik testler kullanılmaktadır. MEFV mutasyonları iyi tanımlanmış olsa da AAA tanısında klinik bulgular daha değerlidir.

Tipik klinik özellikleri taşıyan ve etnik kökeni uygun olan hastalarda tanı genetik doğrulama olmadan da konulabilir ancak atipik klinik bulgularla ortaya çıkıp aile öyküsü bulunmayan ya da etnik kökeni uygun olmayan hastalarda genetik tetkik tanıyı doğrulamak için gerekebilir (43).

Tanı için kullanılabilecek diğer bir kriter de kolşisin yanıtıdır.

Farklı toplumlarda farklı sensitivite ve spesifiteye sahip çok sayıda tanı kriterleri geliştirilmiştir. Tablo 2.1’de özetlenmiş olan yaygın olarak kullanılan Tel Hashomer kriterlerinin, Yalçinkaya ve arkadaşları yaptığı çalışmada pediatrik hasta grubunda sensitivitesinin düşük olduğunu saptamıştır. Tel Hashomer kriterlerine göre tipik bir atakta bulunması gereken özellikler: ağrı, atakların tekrarı (aynı özellikte en az 3 atak, atakların büyük çoğunluğunda ateşin olması ($>38^{\circ}\text{C}$), sürenin kısa olması (12-72 saat) ve ek olarak peritonit (generalize, ağır, yatak istirahati gerektiren), plevrit (tek taraflı), perikardit, diz, ayak bileği veya kalça ekleminde monoartrit, erizipel benzeri döküntü ve/veya simetrik miyaljiden bir veya daha fazlasının varlığıdır. Ancak çocuklar sıklıkla ağrının şiddetini ve lokalizasyonunu tam olarak ifade edemez, göğüs ağrısı çocuklarda her zaman tek taraflı olmayabilir, ağrı süresi daha kısa olabilir. Hastaların %20’sinde ateş 38°C ’nin altındadır ve Tel Hashomer kriterlerinin minör ve destekleyici kriterlerinin bazıları ataklarla ilgili değildir: etnik köken (Yahudi, Türk, Arap, Ermeni), ortaya çıkış yaşı, apendektomi öyküsü ve anne-baba akrabalığı gibi.

Tüm bunlar göz önüne alınarak Yalçinkaya ve arkadaşları tarafından pediatrik AAA tanı kriterlerini geliştirilmiştir (4). Tablo 2.3’de bu kriterler özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Tel Hashomer tanı kriterleri

Majör kriterler
• Poliserözit ile seyreden tekrarlayan ateş atakları • Başka bir nedene bağlanamayan sAA tipi amiloidoz • Sürekli kolşisin tedavisine iyi yanıt
Minör kriterler
• Yineleyen ateşli ataklar • Erizipel benzeri döküntü • Birinci derece akrabada AAA varlığı

Olası Tanı: 1 majör + 1 minör kriter

Kesin Tanı: 2 majör veya 1 minör + 2 minör kriter (3)

Tablo 2.2. Livneh ve arkadaşlarının tanı kriterleri

Majör Kriterler: Tipik ataklar (≥ 3 kez tekrarlayan aynı karakterde, atak süresinin 12-72 saat olması ve ateşli olması, ateşin 38°C ve üzerinde olması)
1. Yaygın peritonit 2. Plörit (tek taraflı) veya perikardit 3. Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği) 4. Yalnızca ateş 5. İnkomplet abdominal ataklar
Minör Kriterler
Aşağıdaki bölgelerden herhangi birini ya da ikisini etkileyen inkomplet* ataklar: 1. Göğüs 2. Eklem 3. Egzersizle ortaya çıkan bacak ağrısı 4. Kolşisinle tedaviye iyi yanıt
Destekleyici Bulgular
• Ailede AAA öyküsü • Etnik köken • Atakların 20 yaşından önce başlaması • Atağın ciddi yatak istirahati gerektirmesi • Atakların kendiliğinden geçmesi • Ataklar arası semptom olmaması • Tekrarlayan proteinüri ya da hematüri • Gereksiz laparotomi veya apendektomi hikayesi • Akraba evliliği

Kesin tanı: 1 majör kriter veya en az 2 minör kriter veya 1 minör 5 destekleyici kriter veya 1 minör ve destekleyici kriterlerden ilk 5’inden 4 tanesinin bulunması gerekir.

***inkomplet atak:** Vücut ısısının $<38^{\circ}\text{C}$ olması, sürenin daha uzun veya kısa olması (6 saat-1 hafta), abdominal atak boyunca peritoneal bulguların olmaması, lokalize abdominal ataklar, spesifik eklemlerin dışındaki eklemlerin tutulumu olarak tanımlanır (44).

Tablo 2.3. Türk AAA Pediatrik Tanı Kriterleri

1.	Ateş yüksekliği (Aksiller Ateş >38°C, 6-72 saat, en az 3 atak)
2.	Abdominal ağrı (6-72 saat, en az 3 atak)
3.	Göğüs ağrısı (6-72 saat, en az 3 atak)
4.	Artrit (6-72 saat, en az 3 atak)
5.	Aile öyküsü

* Tanı için en az 2 kriter gereklidir (4)

Tanıda genetik testlerin kullanılması destekleyici niteliktedir. Klinik şüphe durumunda tüm gen analizi yapmak yerine yaygın görülen mutasyonları taramak daha faydalı olacaktır. Riskli popülasyonlarda yaygın görülen mutasyonlar ekzon 10 ve ekzon 2 mutasyonlarıdır (Şekil 2.1).

Fonksiyonel karın ağrısı, irritabl barsak sendromu ve tekrarlayan enfeksiyon nedenli yakınmalar AAA kliniği ile karışabilmektedir. Diğer periyodik ateş sendromları AAA ile benzer klinik ile ortaya çıkabilir ancak görülme sıklığı çok daha düşüktür. Nadiren de AAA ile beraber görüldüğü bildirilmiştir (1).

2.1.9. Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi

AAA kronik bir hastalıktır ve uzun süreli takip gerektirmektedir. Bu nedenle tedavi öncesi hastalık şiddetinin değerlendirilmesi hem tedavi düzenlenmesi hem de hastalığı takibi açısından faydalı olacaktır. Hastalık şiddetini değerlendirmek için geliştirilen skorlama sistemleri (45,46) genellikle yetişkin yaş grubu için daha uygun bulunmuştur. Uluslararası AAA çalışma grubunun yaptığı yeni skorlamanın [The International Severity Scoring System for the Familial Mediterranean Fever (ISSF)] (Tablo 2.4) çocukluk yaş grubunda daha iyi sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (7).

Tablo 2.4. ISSF skorum (The International Severity Scoring System for the Familial Mediterranean Fever)

	Kriter	Puan
1	Kronik sekel (amiloidoz, büyüme geriliği, anemi, splenomegali)	1
2	Organ disfonksiyonu (AAA ile ilişkili nefrotik düzeyde proteinüri)	1
3	Organ yetmezliği (renal, kardiyak vb)	1
4a	Atak sıklığı ayda 1 veya 2 ise	1
4b	Atak sıklığı ayda 2'den fazla ise	2
5	Atak aralarında akut faz reaktanlarında (CRP, sedimentasyon, serum amioioid A, fibrinojen) yüksekliğin devam etmesi (son ataktan sonra en az 2 hafta geçmiş olmalı)	1
6	Atak sırasında sayılanlardan ikisinin görülmesi: perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis bulguları, miyalji	1
7	Hastalık süresince 2 farklı tip atak çeşidi olması (izole ateş, perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis bulguları, miyalji)	1
8	Atak süresi (yılda 3 atağın 72 saat ve daha uzun sürmesi)	1
9	Egzersizle bacak ağrısı (egzersiz ya da uzun süre oturma ile ortaya çıkan)	1

>=6: ciddi hastalık, 3-4: orta şiddette, =<2: hafif şiddette

2.1.10. Tedavi

Tedavide esas amaç atakları kontrol altına almak, ataklar arasındaki inflamasyonu baskılamak ve amiloidoz gelişimini önlemektir. AAA tedavisinde temel ilaç kolşisinidir ve 1972 yılından bu yana tedavide kullanılmaktadır. Günümüzde moleküler ve genetik çalışmaların artması ile birlikte kolşisin yanıtı az hastalarda yeni tedavi ajanları da kullanılmaya başlanmıştır (Şekil 2.2).

Anakinra

Rekombinant IL-1 antagonistidir. IL-1 α ve β 'yı bloke eder. Yarılanma ömrü 4-6 saattir bu nedenle günlük subkutan kullanım önerilmektedir. Yapılan bir randomize kontrollü çalışmada kolşisin dirençli AAA tanılı hastalarda anakinra kullanımı ile atak sıklığının azaldığı ve yaşam kalitesinin arttığı gösterilmiştir (47).

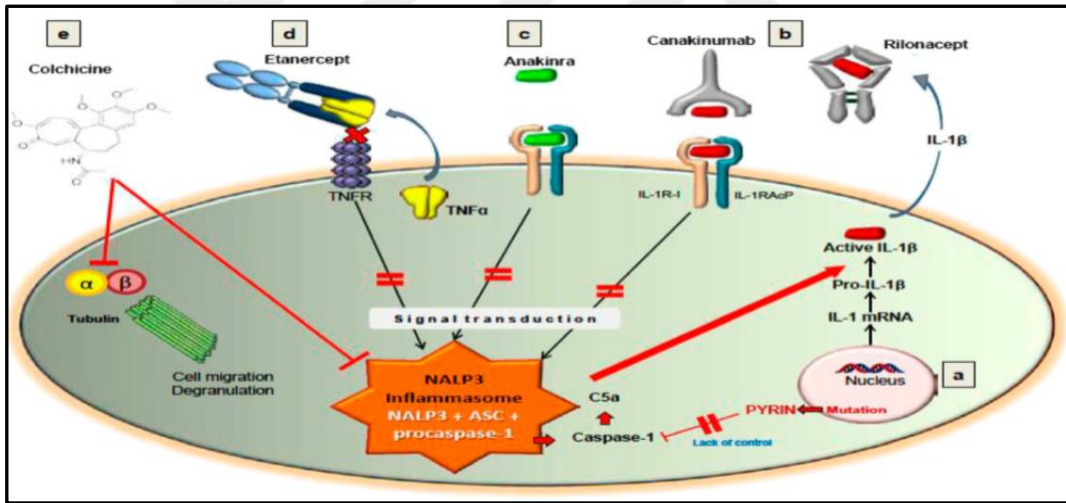
Enjeksiyon bölgesinde oluşacak enfeksiyon en önemli yan etkidir ve tedaviyi kesme nedenidir. İlaç nedenli 3 pnömoni olgusu bildirilmiştir.

Rilonasept

IL-1 reseptör füzyon proteinidir, sinyal yolunu bloke ederek etki eder. Yarılanma ömrü 6 ile 8 gün arasında değişmektedir. Bu nedenle haftalık uygulama yeterlidir. Yapılan randomize kontrollü çalışmada 12 hastanın 9'unda atak sıklığını %50'den fazla azalttığı gösterilmiştir (48).

Kanakinumab

İnsan monoklonal IL-1 β antagonistidir. En uzun ömürlü antagonisttir, yarılanma ömrü 21-28 gündür bu nedenle 4-6 haftada bir uygulanması yeterlidir. Subkutanöz uygulanır. AAA tedavisi için FDA tarafından onay almıştır. 80 hastanın yer aldığı bir çalışmada atak sıklığını %71'e kadar azalttığı gösterilmiştir (49). Son yapılan çalışmalardan birinde ise 21 hastanın %65'inde kanakinumab ile remisyon sağlandığı gösterilmiştir (50).



Şekil 2.2. Kolşisin ve IL-1 karşıtlarının (anakinra, kanakinumab, rilonasept) etki mekanizması (51)

Kullanılan diğer biyolojik ajanlar TNF- α karşıtları ve anti IL-6 ajanlardır. Ancak bunlarla ilgili randomize kontrollü çalışma henüz bulunmamaktadır (52).

Selektif serotonin reuptake inhibitörleri (SSRI) ile tedavi yanıtı alındığını gösteren vaka çalışmaları mevcuttur. Stres altındaki hastaların daha sık atak geçirdiği biliniyor. Retrospektif araştırmalarda SSRI kullanımı ile atak sıklığının azaldığı gösterilmiştir (53). Ayrıca kolşisin direnci olan hastalarda plazma ve trombosit serotonin seviyelerinde farklılıklar olduğu gösterilmiştir (54).

2.2. Kolşisin

Kolşisin AAA tedavisinin temel ilacıdır. Atakları önler, remisyon sağlar ve amiloidoz gelişimini engeller (55).

Önerilen maksimum doz yetişkin için 3 mg/gün, çocuk için 2 mg/gün'dür. Çocuklar için yaş grubuna ve kiloya göre değişen aralıklarda farklı tedavi önerileri mevcuttur. Uygun dozda ve düzenli tedaviye rağmen kolşisin resistansı görülme sıklığı %10-15 oranında bildirilmiştir (56).

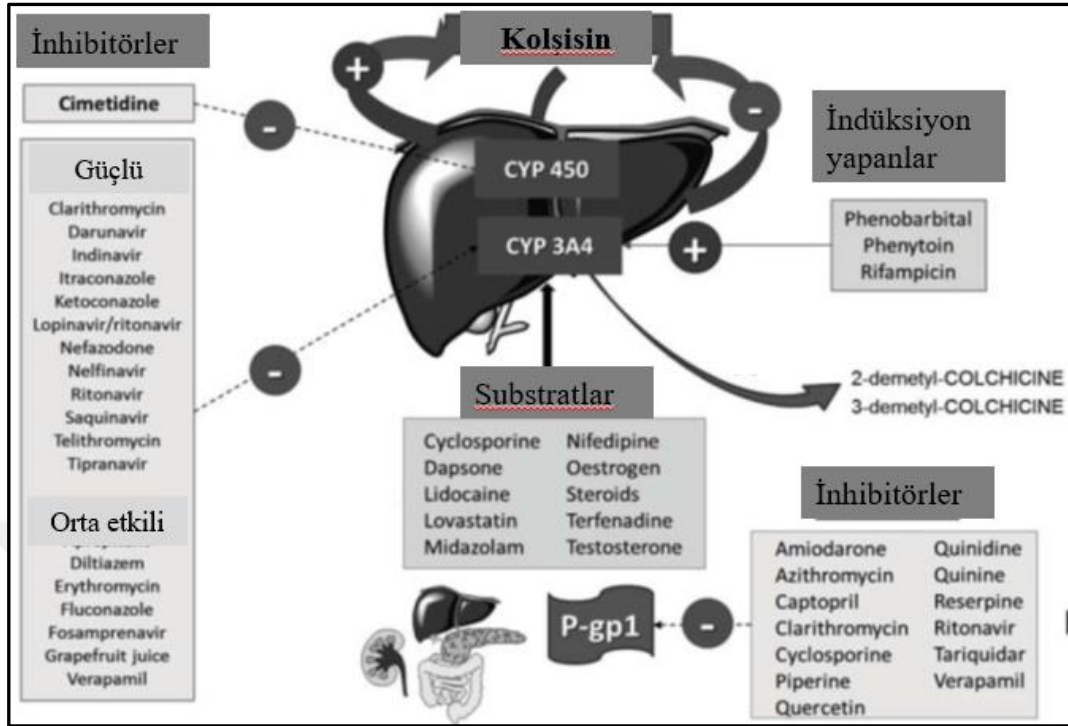
2.2.1. Kolşisin Tarihçesi

Kolşisin günümüzde de hala kullanılan en eski ilaçlardandır. Tarihçesine bakıldığında M.Ö. 1500'lerde Ebers papirüslerinde dahi yer aldığı görülmektedir (6). Kolşisin zambak ailesinden Colchicum autumnale (güz çiçeği) bitki derivativesi bir alkoloiddir ve 1800'lerde aktif olan formu elde edilmiştir. Kimyasal bileşeni ise ancak 1955'lerde belirlenebilmiştir. Kolşisin tedavisini 1972'de benzer zamanlarda Boston'dan S.E. Goldfinger 5 hastada ve E. Özkan İstanbul Üniversitesi'nden 14 hastada denemişlerdir ve tedavi yanıtı almışlardır. 1972 yılından bu yana da AAA tedavisinde temel ilaç olarak kullanılmaktadır. Amiloidoz gelişimini engellediği ise ilk kez 1986 yılında gösterilmiştir (55).

2.2.2. Kolşisin Farmakokinetiği

Kolşisin oral yolla alınmaktadır, intravenöz yol toksisite nedeni ile kullanılmamaktadır. Albümine düşük afinite ile bağlanır. Jejunum ve ileumdan emilen kolşisin, enterohepatik sirkülasyona girer. Maksimum plazma konsantrasyonuna 30 dk - 2 saat sonra ulaşır, ancak enterohepatik sirkülasyon nedeni ile 6. saatte yeniden pik plazma düzeyi görülür. Yarılanma ömrü 9-12 saattir. Çoğunluk safra ve feçesle, %10-20 kadarı böbrekler yoluyla atılır (13) (Şekil 2.3).

Kolşisinin metabolizmasından esas olarak sitokrom P450 enzim sistemi (CYP3A4 izoformu) sorumludur. CYP3A4 hepatosit ve enterositlerde bulunur, kolşisini 2 ve 3 dimetil-kolşisine metabolize eder (6). Çoklu ilaç direnci taşıyıcı molekül MDR1, ABCB1 (ATP-binding cassette subfamily B member 1) gen ürünü olan P-glycoprotein, CD243 olarak da bilinir, ATP bağımlı fosfoglikoproteindir.



Şekil 2.4. Kolşisin metabolizması ve etkili ilaçlar (6)

Sitokrom 2D6 (CYP2D6), CYP450 enzim ailesindendir ve enzim sistemi içerisinde %1,5'lik bir orana sahiptir. Ksenobiyotiklerin, karsinojenlerin ve çeşitli ilaçların oksidatif biyotransformasyonunda rol oynar. CYP2D6 en iyi polimorfik CYP geni olarak bilinir ve 22q13.1 kromozom üzerinde 80'den fazla CYP2D6 ile ilişkili allel tariflenmiştir (59). Bireyler CYP2D6 genotipik farklılığa göre yavaş, orta, hızlı ve ultra hızlı metabolizörler olarak ayrılırlar. Yavaş metabolizör olan bireylerde CYP2D6 fonksiyonel allel yokluğundan bahsedilir, ultra hızlı metabolizör olanlarda ise 2'den fazla fonksiyonel allel vardır. Yavaş ve orta metabolizör olanlar azalmış ilaç etkinliği açısından risk taşımaktadır. Bununla beraber ultra hızlı metabolizör olanlar ise teröpatik başarısızlık ve oluşacak toksik metabolitler nedeni ile ilaç yen etkileri açısından risk taşımaktadır (60). CYP2D6 için tariflenen bu genetik varyasyon ilaçların etki mekanizması ile doğrudan ilişkili olduğu için toplum sıklığını göstermek adına Türkiye'de yapılan çalışmalarda allel sıklığı CYP2D6*1, *2, *4, *5, *10 ve *17 sırasıyla %37, %35, 11%, %1, %6 ve %1 oranında bulunmuş. Zayıf metabolizer (homoziot mutasyon) sıklığı ise %1,54 olarak bulunmuş (61).

Tablo 2.5. Sitokrom P450 enzim sistemi üzerine etki eden ilaçlar (62)

	*İndüksiyon yapanlar	*İnhibisyon yapanlar		
CYP3A4	Deksametazon Fenilbutazon Fenitoin Fenobarbital Glukokortikoidler Karbamazepin Prednizon Primidon Rifabutin Rifampisin Sulfinpirazon Troglitazon	Amiodaron Anastrozol Danazol Delavirdin Ketokonazol Propoksifen Kinidin Ranitidin Diltiazem Klaritromisin Sertindol Eritromisin Klotrimazol Sertralin Nefazodon	Itrakonazol Flukonazol Makrolidler Simetidin Fluoksetin Metronidazol Siprofloksasin Fluvoksamin Mibefradil Trioleandomisin Gestoden Mifepriston Zafirlukast Nifedipin Zileuton	Norfluoksetin Omeprazol Paroksetin Greyfurtsuyu Mikonazol Verapamil HIVproteaz inhibitörleri: İndinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir Nevirapin
CYP2D6	Deksametazon Karbamazepin Rifampisin	Primakin Halofantrin Propafenon Ranitidin Antiarritmikler: Flekainid Ajmalin Kinidin Propafenon Ketokonazol Ritonavir Kinidin Sertindol	Paroksetin Fluvoksamin Sertralin Klorfeniramin Simetidin Haloperidol Klorokin Klomipramin Antipsikotikler: Flufanezin Haloperidol Levomepromazin Tiyoridazin Perfenazin	Terbinafin Kokain Venlafaksin Lomustin Vinblastin Desipramin Mibefradil Yohimbin Doksorubisin Moklobemid Vinorelbin Eritromisin Metadon Nefazodon Fenfluramin

* Kolşisinin CYP450 inhibitörleri ile birlikte kullanımında kan düzeyinin arttığı, enzim indüksiyonu yapanlar ile birlikte kullanımında ise kan kolşisin düzeyinin azaldığı düşünülmektedir.

2.2.3. Kolşisin Etki Mekanizması

Kolşisin binlerce yıldır kullanılmasına rağmen etki mekanizması henüz tamamen açıklanamamıştır. Kolşisinin antiinflamatuvar etki mekanizması mikrotübül oluşumunu bloke ederek birçok hücre tipinde gen ekspresyonu, farklılaşma ve çoğalmayı etkiler. Lökositlerin yuvarlanma (rolling), yapışma (adezyon), fagositoz ve bazı granül ve sitokin salınım fonksiyonunu etkiler. Nötrofillerin lökotrien B4, interlökin 8 (CXCL8) ve diğer kemotaktik sitokinlere yanıtını baskılar ve aktive nötrofiller ile IL-1 üretimini bloke eder. Hücre iskeletinde yer alan AAA patogenezinin sorumlu pyrin'i modüle eder.

Makrofajlarda ve endotel hücrelerinde TNF- α reseptörlerinin sayısını azaltır. Sitokinlerin üretim ve olgunlaşmasını düzenler, dentritik hücreler ve makrofajlar yoluyla antijen sunumunu düzenler, fosfolipaz A2 aktivasyonunu baskılar ve siklooksijenaz-2'nin ekspresyonunu uyarır (6).

2.2.4. Kolşisin Kullanım Dozu ve Yan Etkileri

Çocukluk yaş grubunda kullanım dozu ile ilgili çeşitli öneriler bulunmaktadır. Yetişkin için maksimum doz 3 mg/gün, prepubertal dönem için ise 2 mg/gün olarak önerilmektedir (63).

Çocuklarda önerilen kolşisin dozu ile ilgili yapılan bir çalışmada başlangıç dozu olarak 5 yaş altı için 0,5 mg/gün, 5-10 yaş aralığı için 1 mg/gün ve 10 yaş üstü için 1,5 mg/gün olarak belirlenmiştir. Gerekli olması durumunda maksimum 2 mg/gün olacak şekilde arttırılacağından bahsedilmiş (64). Başka bir çalışmada başlangıç dozu 4-6 yaş için 0,3 mg/gün, 7-12 yaş için 0,9 mg/gün ve 12 yaş üzeri için 1,2 mg/gün olarak saptanmış. Ancak Avrupa'da ve ülkemizde kullanılan kolşisin preparatlarının 0,5 mg ve 1 mg'lık olması nedeni ile uygulanabilir bir öneri değildir (65).

Kolşisin nedenli görülen yan etkilerin başında gastrointestinal yakınmalar gelir (%20). Oral yolla kullanılan kolşisin dispeptik yakınmalara, laktoz intoleransına, bulantı-kusmaya, karında kramplara ve diyareye yol açabilmektedir. Doz azaltımı ile bu yan etkilerin görülmesi engellenebilir.

Kolşisin nedenli nöromiyopati diğer görülen yan etkidir. Hastanın AAA nedenli oluşacak miyalji yakınmasından bu yan etki bulgusunun ayrımının yapılması önemlidir. Kolşisine bağlı ortaya çıkan miyaljide serum kreatin kinaz seviyesi yükselmiştir. Şiddetli proksimal güçsüzlük eşlik edebilir ve ilaç kesimi ile beraber 1 ay içerisinde yakınmalar tamamen geriler.

Kemik iliği baskılanması teröpatik dozlarda nadir görülen bir yan etkidir. Lökopeni, anemi, trombositopeni ya da hemolitik anemi şeklinde bulgu verir. Diğer nadir görülen yan etkiler alopesi, döküntü, iştah artışıdır (66).

Yan etki görülme sıklığı ileri yaş, renal ya da hepatik yetmezlik ve intravenöz uygulama nedeni ile artmaktadır. Ayrıca ilaç etkileşimleri nedeni

(CYP3A4 ve P glycoprotein etkisiyle) ile kolşisin plazma düzeyinin değişmesi de yan etki görülme sıklığını arttıran nedenlerdendir (67).

Kolşisin infantlarda, gebelerde ve laktasyonda güvenle kullanılabilen ilaçlardandır. Gebelikte fetusa geçişi vardır ancak fetustaki kan seviyesi önemsenmeyecek kadar düşük bir seviyededir (68).

2.2.5. Kolşisin Direnci

AAA tanılı hastaların %10-15'inde uygun dozda ve düzenli tedaviye rağmen kolşisin direnci olduğu saptanmıştır. Kolşisin metabolizmasında etkili olan CYP 450 enzim ailesi ve P glycoprotein (MDR1) düzeyinin bireyler arasındaki genetik polimorfizminin kolşisin kan düzeyine etki ederek direnç gelişiminde rol alabileceği düşünülmektedir (66,69,70).

Yetişkin AAA tanılı 120 hastanın dahil edildiği bir çalışmada MDR1 3435C >T polimorfizmi ile kolşisin yanıtı arasındaki ilişki değerlendirilmiş. Sonuçta kolşisin rezistansının C allel ile ilişkisi anlamlı bulunmuş ve TT allelinde kolşisin yanıtının daha iyi olduğu gösterilmiş (71). Başka bir çalışmada CYP450 ailesinden olan CYP2D6 enziminin kolşisin yanıtı ile ilişkisine bakılmış. Kolşisin rezistansı olan 60 hasta ile kolşisine yanıtı 30 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve CYP2D6 *4 ve *6 patolojik allel sıklığının kolşisin yanıtsız grupta daha yüksek olduğu bulunmuş (72).

Kolşisin direnci farklı gruplar tarafından farklı tanımlanmaktadır. Lidar ve arkadaşları tarafından günlük 2 mg/gün kolşisin tedavisine rağmen 3 ay üst üste olacak şekilde her ay en az 1 atak görülmesi olarak kabul etmiş (73).

Ben-Chetrit ve Ozdogan tarafından atak sıklığında azalma kolşisine yanıtı olarak kabul edilmiş (74).

Hentgen ve arkadaşları tarafından tedaviye uyumlu AAA hastalarında tipik atakların yılda 6'dan fazla ya da 4-6 ayda 3'den fazla görülmesi direnç olarak kabul edilmiş (63).

En güncel çalışma Ozen ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılmıştır. 6 ay ve üzeri süresi boyunca maksimum dozdan kolşisin kullanımına rağmen her ay en az 1 atak görülmesi kolşisin direnci olarak tanımlanmıştır (75).

2.2.6. Kolşisinin Tedavide Kullanıldığı Diğer Hastalıklar

Kolşisinin inflamasyonu baskılama özelliği nedeni ile birçok romatolojik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Gut, psödogut, Behçet hastalığı gibi bazı vaskülitlerde kullanılmaktadır. Bununla beraber birçok dermatolojik hastalıkta da çeşitli çalışmalarla etkinliği gösterilmiştir (6). Tablo 2.6’da bu hastalıklar özetlenmiştir.

Tablo 2.6. Kolşisinin tedavide kullanıldığı diğer hastalıklar (6)

Hastalık	Kanıt Düzeyi
Aktinik keratoz	1
Behçet	1
Kronik ürtiker	2
Epidermolizis bülloza	2/3
Granuloma annulare	3
Henoch schlein purpurası	3
Hidradenitis suppurativa	3
Linear IgA	3
Lökositoklastik vaskülit	1
Nötrofilik ürtiker	3
Nodular vaskülit	3
Piyoderma gangrenosum	3
Rekurren aftöz stomatit	½
Skleroderma	3
Sweet sendromu	2
Ürtikeryal vaskülit	2

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Tanımı ve Sayısı

Çalışma Grubu

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji Bilim Dalı, Çocuk Romatoloji Ünitesinde takip edilen, FMF tanısı almış 5-18 yaş aralığındaki 120 hasta (poliklinik başvurusu sırasına göre) en az 12 aydır izlemi devam eden, MEFV geninde homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon varlığı gösterilmiş olan 5-18 yaş aralığında 120 çocuk hasta (poliklinik başvurusu sırasına göre)

Hasta grubu: Ocak 2018 ve Ocak 2019 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji Bilim dalında Türk Pediatrik AAA kriterlerine göre tanı almış, kolşisin tedavisi alan ve MEFV geninde homozigot, bileşik heterozigot ya da heterozigot mutasyon varlığı gösterilmiş olan 124 hasta çalışmaya dahil edildi.

Araştırmaya alınma kriterleriYukarıda belirtilen hasta tanımına uygunlukla beraber 5-18 yaş aralığında, yaş kriterini taşıyan en az 6 - 12 aydır takipli ve en az 3 defa poliklinik başvurusu olan, araştırmaya katılmaya gönüllü olan kişiler araştırmaya alındı (poliklinik başvurusu sırasına göre??)

Araştırmadan çıkarılma kriterleri

Araştırmaya alınma kriterlerini taşımayanlar ve/veya katılımcılardan (aile ve çocuk) gönüllü olarak çalışmaya katılma isteği olmayanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Genetik tanısı olmayan hastalar

Kontrol grubu

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine başvuran, ailede AAA öyküsü ve AAA düşündürülen semptomları olmayan, fizik muayene bulguları ve yapılmış olan incelemelerinde herhangi bir

kronik inflamasyon bulgusu eşlik etmeyen, yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 60 sağlıklı gönüllü çocuk seçildi.

Araştırmanın yürütüldüğü Çocuk Nefroloji Bilim Dalına poliklinik başvurusu esnasında hastaların demografik bilgileri, hastalık süreci ile ilgili veriler daha önceden oluşturulan formlar kullanılarak toplandı. Laboratuvar sonuçları hastane kayıt sisteminden tarandı.

Birlikte uygulanacak diğer tanı/tedavi vb yöntemler

Tüm hastaların “Hastalık Şiddet Skorlaması” Hasta grubuaynı doktor tarafından yapıldı. ISSF skorlama sistemi kullanıldı. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası klinik ve laboratuvar bulguları incelenerek ayrı ayrı puanlama yapıldı.

Kolşisin direnci; düzenli ve yeterli dozda kolşisin tedavisi alan hastalarda atak sıklığının değişmemesi ya da her ay en az 1 atak geçirmesi olarak kabul edildi.

Hastaların kolşisin kullanım dozu ise 2 farklı şekilde gruplandı. Sınıflamalardan biri tüm gruplarda 1,2 mg/m²/gün’den az ve fazla kullanan hastalar olarak diğeri ise hastaların kilogramına göre hesaplanan kolşisin dozunu persentillere ayırarak sınıflama şeklindeydi.

Çalışma için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun 12.03.2018 tarih ve 70904504/111 numaralı onayı alındı (Ek-1).

Hastalara ve kontrol grubuna sadece tetkik kapsamında ve rutin poliklinik takipleri sırasında müdahalede bulunulmuş olup, hastalığın seyrini kötüleştirecek ya da hastaya zarar verecek bir girişim yapılmadı.

Çalışmaya dahil edilen çocukların tamamına ve ailelerine bilgilendirme ve gönüllü rıza formu okutularak imzaları alındı (Ek-2).

3.2. Laboratuvar Değerlendirmesi

Olguların hedef gen bölgelerindeki DNA varyantlarının incelenmesi ve tanımlanması Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyeleri eşliğinde SBAUM altyapısı kullanılarak gerçekleştirildi.

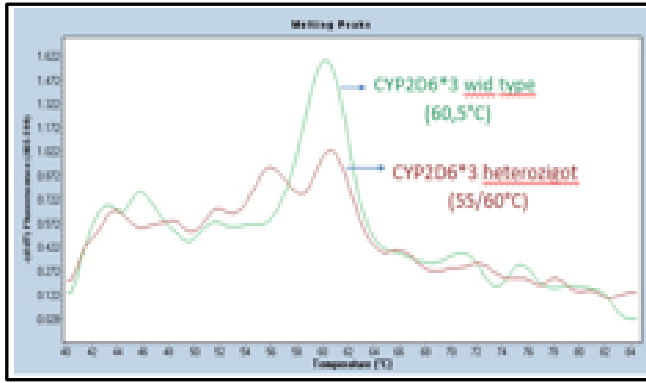
Kan Örneği Alınması ve DNA Eldesi

Rutin hizmet sürecinde gerçekleştirilecektir. Gönüllülerden kan örneği alındıktan sonra takipleri muayene bulgularına göre rutin olarak devam ettirilecektir.

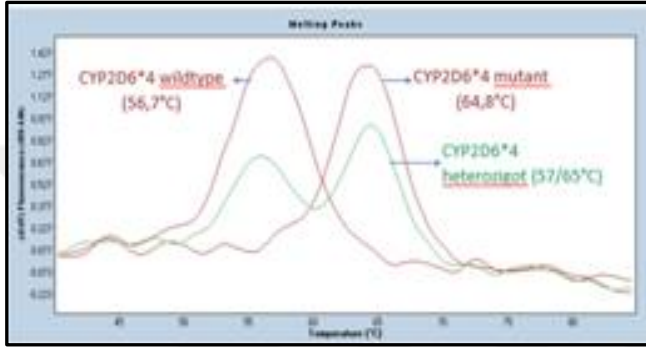
Poliklinik başvuruları esnasında olgulardan çocuk hastalardan 5 ml periferik venöz kan örneği EDTA'lı tüpe alındı. Kan örneğinden silika kolon yöntemi ile genomik DNA eldesi yapıldı, DNA kalitesi ve miktarı spektrofotometreyle belirlendi ve DNA örnekler -20°C'de saklandı.

PCR ile Varyant Analizi

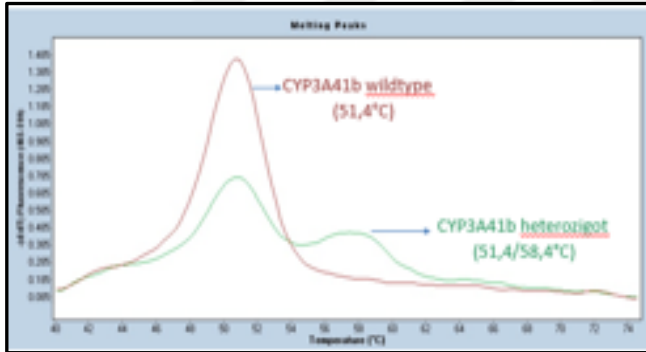
Hedef gen bölgeleri olarak MDR1 c.3435C>T (rs1045642), CYP3A41B c.-392G>A (rs2740574), CYP2D6*4 c.1934G>A (rs3892097) ve CYP2D6*3 c.2637A>del (rs35742686) varyantları incelendi. Bu varyantların analizi allellere özgül floresan işaretli probların kullanıldığı kantitatif PCR ile amplifikasyon sonrasında yapılacak erime eğrisi (melting curve) yöntemi ile gerçekleştirildi (Resim 3.1). Kantitatif PCR işlemleri için SBAUM altyapısında mevcut cihazlar (LC480 Kantitatif PCR Cihazı) kullanıldı.



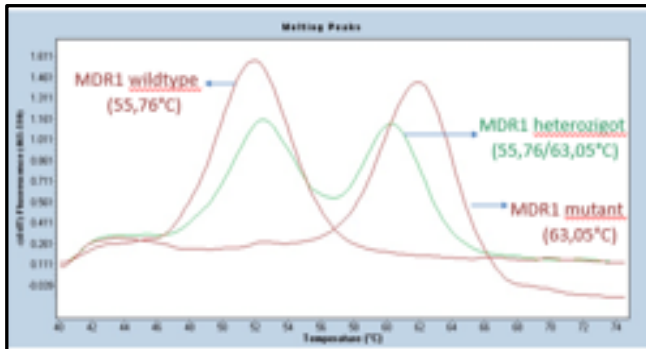
a) CYP2D6*3 erime eğrisi



b) CYP2D6*4 erime eğrisi



c) CYP3A41B erime eğrisi



d) MDR1 erime eğrisi

Resim 3.1. MDR1 c.3435C>T, CYP3A41B c.-392G>A ve CYP2D6 c.1846G>A (*4)- c.2549A>G (*3) varyantları erime eğrileri ve erime sıcaklıkları

3.3. İstatistiksel Analiz

Sayısal verilerin ortalama, standart sapma, medyan olarak; kategorik değişkenler ise yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler arasındaki fark ki-kare testi ile değerlendirildi. Gruplar arası ortalamalardaki fark normal dağılım gösteren veriler “Student t testi” ile, normal dağılım göstermeyen veriler “Mann-Whitney U” ve “Kruskal Wallis” testleri ile değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapıldı ve $p < 0,05$ değerinin istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Allellerin dağılımı Hardy-Weinberg dağılımına uyum açısından ki-kare testi ile değerlendirildi. İstatistikçi desteği alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Mart 2018 ve Ocak 2019 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji Bilim Dalında Türk Pediatrik AAA kriterlerine göre tanı almış 124 hasta ve kontrol grubu olarak herhangi bir kronik inflamasyon bulgusu ya da öyküsü, kronik hastalığı olmayan 60 sağlıklı çocuk değerlendirildi.

4.1. Klinik ve Demografik Özellikler

Hastaların 55'i kız (%44,4), 69'u erkek (%55,6) idi. Kontrol grubundaki cinsiyet dağılımı ise 30'u kız (%50), 30'u erkek (%50) olarak hasta grubu ile benzer şekildeydi. Hastalarımızın yaş ortalaması $11,41 \pm 4,2$ yaş (3-18 yaş) idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise $9,15 \pm 4,8$ yaş (3-18 yaş) olarak bulundu. Tedaviye başlama yaşının $6,3 \pm 3,69$ yaş, tanı gecikmesinin ise $11,3 \pm 23,556$ ay olduğu görüldü. Hastaların %36,3'ünde tanıda gecikme vardı. Hastaların kliniğimizdeki izlem süresi ortalama $56,5 \pm 52,9$ aydı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

Demografik Özellik	Hasta n (mean $\pm$ SD)
Yaş	$11,41 \pm 4,2$ yaş
Cinsiyet (K/E)	55 (%44,4) /69
Tedaviye başlama yaşı	$6,3 \pm 3,69$ yaş
Tanı gecikmesi	$11,3 \pm 23,556$ ay
İzlem süresi	$56,5 \pm 52,9$ ay
Kolşisin direnci	
Ek hastalık	
Ek tedaviler	
Akraba evliliği	
Ailede AAA öyküsü	

Hastaların kökenlerinin bölgelere göre dağılımına bakıldığında çoğunluk hastanemizin de yer aldığı Akdeniz Bölgesi'ndendi (%41,8). İkinci sıklıkta İç Anadolu Bölgesi'nden köken alan hastalar mevcuttu (%32). Hastaların biri Özbekistan biri de Kazakistanlıydı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hastaların bölgelere göre dağılımı

Bölgeler	Hasta dağılımı n (%)
Akdeniz	51 (%41,8)
İç Anadolu	39 (%32)
Doğu ve Güneydoğu Anadolu	20 (%16,4)
Ege ve Marmara	9 (%7,4)
Karadeniz	3 (%2,5)

Hastaların ek hastalığının varlığı, başka tedavi alıp almadığı ve aile öyküsü sorgulandı. 23 (%18,5) hastada ek hastalık vardı. Eşlik eden hastalıkların başında juvenil idiopatik artrit gelmekteydi (%21,7), 3 (%13) hastada kalıtsal böbrek anomalisi mevcuttu. Hastaların 3'ünde (%13) AAA dışı nedenli KBY gelişmişti. Hastaların 1'inde amiloidoz tanısı mevcuttu. Hastaların 27'si çeşitli nedenlerle ek tedaviler almaktaydı. En sık kullanılan kolşisin dışı ilacın kanakinumab olduğu görüldü (%22,2). Kullanılan kolşisin dışı ilaçların hepsi CYP450 ve P-glycoprotein aktivitesine etki etmeyecek ilaçlardandı.

Hastaların 35'inde (%28,2) akraba evliliği öyküsü vardı. Hastaların yarısına yakınının (%49,2) birinci ya da ikinci derece akrabalarında AAA tanılı birey vardı. Hastaların ailelerinde renal ve romatizmal hastalıklar sorgulandığında %9,7 renal hastalık öyküsü (en sık kronik böbrek yetmezliği), %11,3 oranında romatizmal hastalık öyküsü (en sık romatoid artrit) olduğu görüldü.

Hastaların başvuru yakınmalarına ve eşlik eden diğer klinik özelliklerine bakıldı. Hastalık şiddet skorlaması (ISSF) 3 gruba ayrılarak incelendi.

Hastaların başvuru nedenleri arasında en sık görülen şikâyet karın ağrısıydı, ateş ikinci sıklıkta görülen yakınmaydı. Sıklık sırasına göre eklem şikayetleri (artrit, artralji), eritem, miyalji, plörezi diğer başvuru yakınmaları olarak saptandı. Hastaların ikisi, karın ağrısı ile başvuru esnasında apandisit olarak değerlendirilip, opere olmuştu. Hastalardan birinde amiloidoz gelişimi, bu nedenle kronik böbrek yetmezliği ve sonrasında renal transplantasyon öyküsü mevcuttu. AAA nedeniyle başka bir renal yetmezlik tablosuna rastlanmadı. Proteinüri %9,7 hastada değişik oranlarda vardı, bu hastalardan 3'ü AAA dışı nedenlerle KBY tanısı almış hastalardan oluşmaktaydı. Hastaların 6'sında radyolojik olarak da doğrulanmış splenomegali varlığı tespit edildi.

Hastalardan 14'ünde (%3,2) büyüme gelişme geriliği olduğu görüldü. Persentil değerleri aynı yaş ve cinsiyettekilere göre 3. persentilin altındaydı.

Kolşisin direnci; düzenli ve yeterli dozda kolşisin tedavisi alan hastalarda atak sıklığının değişmemesi ya da her ay en az 1 atak geçirmesi olarak kabul edildi. Bu değerlendirmeye göre düzenli ilaç kullanmayan hastalar hariç tutularak atak sıklığına ve kolşisin dışı tedavi gereksinimine göre tedavi yanıtı değerlendirildi. Kolşisin direnci hastaların 16'sında (%12,9) saptandı. Bu hastaların 5'i kolşisinin magnezyum içeren formunu kullanmaktaydı. Diğerlerinin 5'i kanakinumab, bir tanesi de etanersept tedavisi alıyordu.

Hastalık şiddet skorlaması hasta görüşmeleri ve laboratuvar değerleri göz önünde alınarak ISSF'ye göre yapıldı. Hastaların çoğu (%69,4) ISSF'ye göre orta şiddette semptomlarla başvurmuştu (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Hastaların klinik özellikleri

Yakınmalar ve klinik bulgular	Görülme sıklığı n (%)	
Ateş	102 (%82,3)	
Karın ağrısı	104 (%83,9)	
Eklem tutulumu	80 (%64,5)	
Eritem	14 (%11,3)	
Miyalji	12 (%9,7)	
Plörezi	6 (%4,8)	
Livedo retikülaris	2 (%1,6)	
Bulantı-kusma	2 (%1,6)	
Apendektomi öyküsü	2 (%1,6)	
Amiloidoz	1 (%0,8)	
Splenomegali	6 (%4,8)	
Proteinüri	12 (%9,7)	
Kolşisin direnci	16 (%12,9)	
Büyüme-gelişme geriliği (Boy ve/veya kilo <3p)	14 (%11,3)	
ISSF skor	<i>Tedavi Öncesi</i>	<i>Tedavi sonrası</i>
• Hafif	31 (%25)	107 (%86,3)
• Orta	86 (%69,4)	15 (%12,1)
• Ağır	7 (%5,6)	2 (%1,6)

Hastaların tamamı kolşisin tedavisi alan gruptan seçilmişti. Kolşisin tedavi dozu ile ilgili çeşitli öneriler olmakla birlikte bizim kliniğimiz 4-6 yaş için 0.3-1,8 mg/gün, 7-12 yaş için 0.9-1,8 mg/gün, 12 yaş üstü için ise 1.2-2,4 mg/gün doz aralıkları göz önünde bulundurularak tedavi yanıtına göre doz artışı yapılmaktadır. Hastaların kolşisin günlük ortalama kullanım dozu $1,16 \pm 0,49$ mg/gün ve $0,03 \pm 0,02$ mg/kg/gün olarak bulundu. Hastaların 34'ü (%27,4) $>1,2$ mg/m²/gün kolşisin alırken hastalığı kontrol altındaydı. Hastaların 15'inde (%12,1) kolşisin yan etkisi görülmüştü. Ancak hiçbirinde tedavi kesmeyi gerektirecek şiddette değildi, 15 hastanın tamamında yapılan doz düzenlemeleri ile yan etki ortadan kalkmıştı. Yan etkiler sıklığı açısından bakıldığında ishal %60 oranıyla birinci sıklıktaydı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Kolşisin dozu ve görülen yan etkiler

Kolşisin	Hasta sayısı n (%)
Doz: $>1,2$ mg/m ² /gün	34 (%27,4)
$<1,2$ mg/m ² /gün	90 (%72,6)
Doz mg/kg/gün (mean $\pm$ SD)	$0,0346 \pm 0,015$
Yan etki sıklığı	15 (%12,1)
İshal	9 (%7,3)
Bulantı – kusma	2 (%1,6)
Lökopeni	2 (%1,6)
Trombositopeni	2 (%1,6)
ALT yüksekliği	1 (%0,8)
Anemi	1 (%0,8)
Saç dökülmesi	1 (%0,8)

MEFV mutasyon dağılımına baktığımızda hastaların çoğu (%40,3) homozigot mutasyon değişikliğine sahipti, M694V homozigot ise en sık görülen MEFV mutasyonuydu (%32,2). İkinci sıklıkta ise M694V/R202Q birleşik heterozigot görüldü. MEFV mutasyon dağılımı ile kolşisin direnci arasındaki ilişki değerlendirildiğinde kolşisin direnci olan hastaların çoğu (%62,5) M694V homozigottu (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. MEFV mutasyon dağılımı ve klinik özellikler

Mutasyon dağılım n (%)	Mutasyon	Toplam Sayı	Ateş n (%)	Karın ağrısı n (%)	Eklem bulgusu n (%)	Eritem n (%)	Göğüs ağrısı n (%)	Miyalji n (%)	Livedo retikularis n (%)	Kolşisin direnci n (%)	Büyüme gelişme geriliği n (%)
Homozigot 50 (%40,3)	M694V/M694V	40	34 (82,9)	32 (80)	25 (62,5)	5 (12,5)	2 (5)	7 (17,5)	-	10 (25)	9
	R202Q/R202Q	5	3 (60)	4 (80)	1 (20)	-	1 (20)	1 (20)	1 (20)	-	-
	M680I /M680I	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-
	E148Q/E148Q	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-
	V726A /V726A	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-
	E167D/E167D	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-
Birleşik heterozigot 47 (%37,9)	M694V/R202Q	23	17 (73,9)	20 (86,9)	17 (73,9)	1 (4,3)	1 (4,3)	1 (4,3)	-	3 (13)	3
	M694V/M680I	3	3	3	2 (66,6)	-	1 (33,3)	-	-	1 (33,3)	-
	M694V/M680I/R202Q	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-
	M694V/R202Q/V726A	2	1	2	-	2	-	-	1 (50)	-	-
	M694V/R761H	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-
	M694V/V726A	2	-	2	-	-	-	2	-	-	-
	E148Q/P369S	2	2	2	1 (50)	1 (50)	-	-	-	-	1
	P369S/R202Q	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	M694V/E148Q	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-
	E148Q/R202Q	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	A744S/R202Q	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-
	A744S/P369S	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	M680I/R202Q	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	E148Q/R202Q/P369S	1	1	1	-	1	--	-	-	-	-
	M694V/P369S/R202Q	1	1	-	1	-	-	-	--	-	-
	P369S/A744S/R202Q	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E176D/M694V/R202Q	1	-	1	1	-	-	1	-	-	-
Heterozigot 27 (21,8)	M694V/N	16	10 (62,5)	14 (87,5)	10 (62,5)	1 (6,2)	2 (12,4)	1 (6,2)	-	1 (6,2)	-
	E148Q/N	6	6	6	4 (66,6)	-	-	-	-	1 (16,6)	1
	M680I/N	3	-	2 (66,6)	1 (33,3)	-	-	-	-	-	-
	V726A/N	2	2	1 (50)	-	1 (50)	-	-	-	-	-
	R202Q/N	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-

Hastaların MEFV mutasyon dağılımı ve cinsiyet ilişkisine bakıldığında kız ve erkek cinsiyet arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı. Homozigot, birleşik heterozigot ve heterozigot mutasyon dağılımı ile kolşisin dozu ve direnci arasındaki ilişki değerlendirildi. Kolşisin dirençli grubun %62,5'i homozigot mutasyona sahip gruptandı. Kullanım dozunda 1,2 mg/m²/gün'den az ve fazla kullanan hastaların gruplar arasındaki dağılımı benzerdi. Cinsiyet dağılımı gruplar arasında benzerdi. Başvuru anındaki hastalık şiddet skorlarına bakıldığında heterozigot mutasyona sahip olan hastaların daha düşük şiddetli hastalık skoruna sahip olduğu görüldü (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. MEFV mutasyon dağılımı ile cinsiyet ve kolşisin ilişkisi

		Homozigot n (%)	Birleşik heterozigot n (%)	Heterozigot n (%)	P değeri
Cinsiyet	Kız	21 (42)	25 (53,8)	9 (33,3)	0,231
	Erkek	29 (58)	22 (46,2)	18 (66,6)	
Hastalık şiddeti	≥6	3 (42,9)	3 (42,9)	1 (14,3)	0,413
	3 ve 5	39 (45,3)	29 (33,7)	18 (20,9)	
	≤2	8 (25,8)	15 (48,4)	8 (25,8)	
Kolşisin dozu	<1,2 mg/m ² /gün	36 (40)	33 (36,7)	21 (23,3)	0,776
	≥1,2 mg/m ² /gün	14 (41)	14 (41)	6 (18)	
Kolşisin direnci		10 (62,5)	4 (25)	2 (12,5)	0,152

4.2. MDR1 Varyantlarının Değerlendirmesi

Kolşisin metabolizmasında önemli role sahip MDR1 proteininin c.3435C>T (rs1045642) varyant dağılımı değerlendirildi. Hasta ve sağlıklı popülasyondaki dağılım sıklığına bakıldı. Hastaların klinik özellikleri, kolşisin kullanım dozu, görülen kolşisin yan etki profili ve kolşisin direnci ile varyant dağılımı arasındaki ilişki değerlendirildi.

Hastaların 122'sinde ve kontrol grubundaki 60 çocuğun tamamında analiz yapıldı. Sonuçta çalışmaya dahil edilenler varyant dağılımına göre wild type (wt); MDR1 C3435, heterozigot (het); MDR1 C3435T ve mutant; MDR1 3435T değişiklik olarak sınıflandırıldı.

Hasta ve normal popülasyonu gösteren kontrol grubuna bakıldığında MDR1 varyant dağılımı benzerdi. Hastaların %63,9'u, kontrol grubunun ise %70'i T alleleline sahipti (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Hasta ve kontrol grubundaki MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı

Tür	MDR1			P	χ^2	OR	95% [CI]
	CC/wt n (%)	CT/ het n (%)	TT/mut n (%)				
Hasta	44 (36,1)	57 (46,7)	21 (17,2)	0,838	0,042	1,316	0,677-2,558
Kontrol	18 (30)	29 (48,3)	13 (21,7)				

Hasta grubunda MDR1 varyant dağılımı ile klinik özellikler karşılaştırıldı. MDR1 varyant dağılımı ile MEFV mutasyon dağılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Varyant dağılımı ile cinsiyet ilişkisine bakıldığında erkek ve kız cinsiyette varyant dağılımı açısından oranlar benzerdi. Kolşisin yan etkisi ile varyant dağılımı karşılaştırıldı. Yan etki görülme sıklığı ile varyant dağılımı arasında anlamlı bir fark yoktu. Hastalık şiddet skorlaması yapıldığında tedavi öncesi ve sonrası puan değerlerine varyantlara göre bakıldı, mutant grupta tedavi sonrası ISSF değerinin diğer gruplara göre yüksek kalmaya devam ettiği görüldü (p=0,016) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve klinik özelliklerin karşılaştırılması

Klinik özellikler		MDR1			P değeri
		CC n (%)	CT n (%)	TT n (%)	
MEFV mutasyonu	Homozigot	22(50,0)	20(35,1)	7(33,3)	0,154
	Birleşik Heterozigot	16(36,4)	25(43,9)	6(12,8)	
	Heterozigot	6(13,6)	12(21,1)	8(38,1)	
Cinsiyet	Kız	28(45,2)	38(44,2)	19(55,9)	0,489
	Erkek	34(54,8)	48(55,8)	15(44,1)	
Boy ve/veya kilo <3p		8(12,9)	4(4,6)	1(2,9)	0,161
Akrabalık öyküsü		11(25,0)	19(33,3)	4(19,0)	0,399
Ailede AAA öyküsü		24(54,5)	27(47,4)	8(38,1)	0,453
Kolşisin yan etki sıklığı		5(11,4)	6(10,5)	4(19)	
• İshal		4	2	3	0,580
• Bulantı – kusma		-	1	1	
• Lökopeni		-	1	1	
• Trombositopeni		-	2	-	
• ALT yüksekliği		1	-	-	
• Anemi		-	1	-	
• Saç dökülmesi					
Kolşisin direnci		5(11,4)	8(14,0)	3(14,3)	0,911
Hastalık şiddet skoru					
6 ve üzeri	Tedavi öncesi	3	2	2	t.ö. 0,797 t.s. 0,016
	Tedavi sonrası	1	0	1	
3 ve 5	Tedavi öncesi	30	29	15	
	Tedavi sonrası	2	7	6	
2 ve altı	Tedavi öncesi	44	57	21	
	Tedavi sonrası	41	50	14	

Pediyatrik hastada önerilen kolşisin dozu literatürde farklı şekillerde önerilmektedir. Biz de hastalarımızın kullanım dozlarını 2 farklı şekilde grupladık. Sınıflamalardan biri tüm gruplarda 1,2 mg/m²/gün'den az ve fazla kullanan hastalar olarak diğeri ise hastaların kilogramına göre hesaplanan kolşisin dozunu persentillere ayırarak sınıflama şeklindeydi. Hastalardan MDR1 mutant grupta %90,5 oranında <1,2 mg/m²/gün kolşisin kullanan hasta vardı. Bu oran mutasyon görülmeyen hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,035) (Tablo 4.9). Aynı şekilde T allel ile C allel sıklığı ve kolşisin dozu karşılaştırması yaptığımızda T allel ile <1,2 mg/m²/gün doz kolşisin kullanımının ilişkili olduğunu görüldü (p=0,046) (Tablo 4.10).

Tablo 4.9. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve kolşisin doz (mg/m²) ilişkisi

Kolşisin doz	>1,2 mg/m ² /gün n (%)	<1,2 mg/m ² /gün n (%)	P değeri	χ ²	OR	95% [CI]
CC	15 (34,1)	29 (65,9)	0,035	4,442	0,203	0,0417-0,992
TT	2 (9,5)	19 (90,5)				

Tablo 4.10. MDR1 c.3435C>T varyant dağılımı ve kolşisin doz (mg/m²) ilişkisi

Kolşisin doz	>1,2 mg/m ² /gün n (%)	<1,2 mg/m ² /gün n (%)	P değeri	χ ²
CC	15 (34,1)	29 (65,9)	0,111	4,404
CT	16 (28,1)	41 (71,9)		
TT	2 (9,5)	19 (90,5)		

Tablo 4.11. MDR1 c.3435C>T allel dağılımı ve kolşisin doz ilişkisi

	>1,2 mg/m ² /gün n (%)	<1,2 mg/m ² /gün n (%)	Toplam	P değeri	OR	95% [CI]
C	46 (31,7)	99 (68,2)	145	0,046	0,5449	0,298-0,995
T	20 (20)	79 (80)	99			

Hastaların günlük kolşisin kullanım dozu mg/kg/gün hesabına göre persentile ayrılarak varyant ilişkisine bakıldı, gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

Kolşisin dirençli 14 hastanın MDR1 varyant dağılımına ve C-T allel dağılımına bakıldığında, kolşisin yanıtı hastalarla benzer dağılıma sahip olduğu görüldü (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. MDR1 c.3435C>T allel dağılımı ve kolşisin direnci ilişkisi

	Kolşisin dirençli n (%)	Kolşisin yanıtı n (%)	Toplam	P değeri	OR	95% [CI]
C	18 (12,5)	127 (87,5)	145	0,698	1,162	0,548-2,461
T	14 (14,2)	85 (85,8)	99			

4.3. CYP2D6*4 ve *3 Varyantlarının Değerlendirmesi

Kontrol grubundakilerin 37'sinde, hasta grubundan ise 92 çocukta CYP2D6*4 c.1934G>A (rs3892097) değişikliği bakıldı. Sonuçta çalışmaya dahil edilenler varyant dağılımına göre wild type (wt); CYP2D6*4 G1934, heterozigot (het); CYP2D6*4 G1934A, mutant (mut); CYP2D6*4 1934A olarak gruplandı.

Varyant dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Hasta ve kontrol grubundaki CYP2D6*4 varyant dağılımı

Tür	CYP2D6*4			P	χ^2	OR	95% [CI]
	GG n (%)	GA n (%)	AA n (%)				
Hasta	58 (63)	31 (33,6)	3 (3,2)	0,838	0,042	1,316	0,677- 2,558
Kontrol	28 (75,6)	8 (21,6)	1 (2,7)				

Hastaların klinik özellikler ile CYP2D6*4 varyant dağılımı arasındaki ilişkiye bakıldı. Tüm gruplarda MEFV mutasyon dağılımı benzer şekildeydi. Cinsiyet ile varyant dağılımı arasında anlamlı bir ilişki yoktu.

CYP2D6*4 mutant varyantı, hastalardan 3'ünde kontrol grubundan ise 1 çocukta saptandı. Hasta grupta yer alan mutant varyanta sahip 3 hastanın birinde kolşisin yan etkisinin ortaya çıkmış olduğu görüldü ve hastaların tamamında kolşisin kullanım dozu $<1,2 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ idi ve direnç saptanan 14 hastanın tamamı bu grup dışındandı.

Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası şiddet skorlaması gruplar içerisinde benzer dağılıma sahipti (Tablo 4.14).

Analiz yapılan 92 hastanın 14 (%15,2)'ünde kolşisin direnci olduğu görüldü. Dirençli hastalardan %64,2'si wild type, geri kalanı ise CYP2D6*4 heterozigot mutasyona sahipti. Allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisine bakıldı. A ve G allel dağılımı ile kolşisin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı görüldü (Tablo 4.15).

Tablo 4.14. CYP2D6*4 varyant dağılımı ile klinik özelliklerin karşılaştırılması

Klinik özellikler		CYP2D6*4			P değeri
		GG/wt n (%)	GA/het n (%)	AA/mut n (%)	
MEFV mutasyonu	Homozigot	29 (50,0)	13 (41,9)	1 (33,3)	0,821
	Birleşik Heterozigot	24 (41,4)	14 (45,2)	2 (66,7)	
	Heterozigot	5 (8,6)	4 (12,9)	0	
Cinsiyet	Kız	35 (40,7)	22 (56,4)	3 (75)	0,135
	Erkek	51 (59,3)	17 (43,6)	1 (25)	
Boy ve/veya kilo <3p		10 (11,7)	2 (5,1)	0	0,847
Akrabalık öyküsü		19 (32,8)	7 (22,6)	1 (33,3)	0,597
Ailede AAA öyküsü		31 (53,4)	18 (58,1)	2 (66,7)	0,847
Kolşisin dozu	>1,2 mg/m ² /gün	15 (25,9)	9 (29,2)		0,549
	<1,2 mg/m ² /gün	43 (74,1)	22 (71,0)	3 (100)	
Kolşisin yan etki sıklığı		7 (12,1)	4 (12,9)	1 (33,3)	0,758
İshal		5	3	1	
Bulantı – kusma		0	1	0	
Lökopeni		1	0	0	
Trombositopeni		2	0	0	
ALT yüksekliği		0	0	0	
Anemi		1	0	0	
Saç dökülmesi		0	1	0	
Kolşisin direnci		9(15,5)	5 (16,1)	0	0,755
Hastalık şiddet skoru					
6 ve üzeri	Tedavi öncesi	4	2	0	t.ö. 0,563
	Tedavi sonrası	6	0	0	
3 ve 5	Tedavi öncesi	44	19	2	t.s. 0,730
	Tedavi sonrası	6	4	1	
2 ve altı	Tedavi öncesi	10	10	1	0,730
	Tedavi sonrası	51	27	2	

Tablo 4.15. A ve G allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi

	Kolşisin dirençli n (%)	Kolşisin yanıtlı n (%)	Toplam	P	OR	95% [CI]
A	23 (15,6)	124 (84,4)	147	0,751	0,842	0,297-2,388
G	5 (13,6)	32 (86,4)	37			

Doz ve varyant dağılımı ile allel dağılımı ilişkisine bakıldığında Cyp2D6*4 G ve A allel dağılımı ile kolşisin mg/m² doz dağılımı arasında anlamlı ilişki yoktu (Tablo 4.16). Persentillere ayrılarak bakılan mg/kg doz dağılımı ile varyant dağılımı ilişkisinde Cyp2D6*4 mutant grubunda kolşisin mg/kg/gün değerinin

wild type ve heterozigot gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük olduğu tespit edildi ($p=0,011$ / $p=0,033$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.16. A-G allel dağılımı ve kolşisin (mg/m^2) doz ilişkisi

	>1,2 $\text{mg/m}^2/\text{gün}$ n (%)	<1,2 $\text{mg/m}^2/\text{gün}$ n (%)	Toplam	P değeri	OR	95% [CI]
G	39 (26,6)	108 (73,4)	147	0,791	0,890	0,386- 2,052
A	9 (24,4)	28 (75,6)	37			

Tablo 4.17. Kolşisin dozu (mg/kg/gün) ve CYP2D6*4 varyant dağılımı ilişkisi

	Cyp2D6*4	Persentiller						
		5	10	25	50	75	90	95
Kolşisin mg/kg/gün	AA	,0179	,020	,0245	,0325	,0450	,0500	,0570
	GA	,0127	,0163	,0207	,0300	,0457	,0600	,0758
	GG	,0100	,0100	,0100	,0200	.	.	.
	Kolşisin dozu (mg/kg/gün)							
Cyp2D6*4	Kolşisin dozu (mg/kg/gün)							
Wild type (GG)	0,033	0,021			0,031 – 0,038			
Heterozigot (AG)	0,030	0,025			0,028 – 0,041			
Mutant (GG)	0,020*.#	-			0,002 – 0,031			

*: wt'ye göre $p<0,05$ (wt – mut karşılaştırmasında $p = 0,011$)

#: het'e göre $p<0,05$ (het – mut karşılaştırmasına $p = 0,033$)

Cyp2D6*3 2637delA (rs35742686), hastaların 92'sinde ve kontrol grubundan 37'sinde bakıldı. CYP2D6*3 varyant dağılımına göre wild type (wt); A(A2637, heterozigot (het); CYP2D6*3 -(A2637, mutant (mut); CYP2D6*3 -(-2637 olarak gruplandı.

Sonuç olarak tüm bireyler Cyp2D6*3 wild type olarak saptandı.

4.4. CYP3A41B Varyantlarının Değerlendirmesi

CYP3A41B -392A>G (rs2740574) varyant dağılımına 124 hasta ve 60 sağlıklı bireyde bakıldı. CYP3A41B varyant dağılımına göre wild type (wt); CYP3A41B G-392, heterozigot (het); CYP3A41B A-392G, mutant (mut) CYP3A41B -392G olarak gruplandı.

Hastalardan 3'ünde kontrol grubundan ise 2 kişide heterozigot değişiklik saptandı. Her iki grupta da mutant değişiklik görülmedi. Hasta ve kontrol grubundaki varyant dağılımı benzer orandaydı (Tablo 4.18). CYP3A41B heterozigot değişikliğe sahip 3 hastanın ikisi <1,2 mg/m²/gün dozdan kolşisin kullanmaktaydı. Bu hastaların hiçbirinde kolşisin yan etkisi görülmemişti. 3 heterozigot değişikliğe sahip hastanın birisinde kolşisin direnci saptanmıştı, diğer ikisi kolşisin direnci olmayan gruptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Allel dağılımı ve kolşisin direnci ile kullanım dozu arasındaki ilişkiye bakıldığında G allelde direnç oranı %33,3 ve <1,2 mg/m²/gün kolşisin kullanım oranı %66,6 oranları ile A allele göre fazlaydı ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.19 ve Tablo 4.20).

Tablo 4.18. CYP3A41B -392A>G varyant dağılımı

	CYP3A41B			P	χ^2	OR	95% [CI]
Tür	AA/wt n (%)	AG/het n (%)	GG/mut n (%)				
Hasta	121 (97,6)	3 (2,4)	-	0,662	0,124	0,719	0,117-4,422
Kontrol	58 (96,7)	2 (3,3)	-				

Tablo 4.19. CYP3A41B -392A>G allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi

	Kolşisin dirençli n (%)	Kolşisin yanıtlı n (%)	Toplam	P değeri	OR	95% [CI]
A	31 (13)	214 (87)	245			
G	1 (33,3)	2 (66,6)	3	0,340	3,4516	0,3039-39,201

Tablo 4.20. CYP3A41B -392A>G allel dağılımı ile kolşisin dozu (mg/m²/gün) ilişkisi

	>1,2 mg/m ² /gün n (%)	<1,2 mg/m ² /gün n (%)	Toplam	P değeri	OR	95% [CI]
A	67 (27,4)	178 (72,6)	245			
G	1 (33,3)	2 (66,6)	3	0,619	1,3284	0,1185-14,892

5. TARTIŞMA

Araştırma grubunda 124 AAA tanılı kolşisin kullanan çocuk ile 60 sağlıklı çocukta MDR1 c.3435C>T (rs1045642), CYP3A41B c.-392G>A (rs2740574), CYP2D6*4 c.1934G>A (rs3892097) ve CYP2D6*3 c.2637A>del (rs35742686) varyant dağılımları incelendi. Hasta grubunun MEFV mutasyon dağılımı ve klinik özelliklerine bakıldı. Tüm hastaların tedavi öncesi ve sonrası için hastalık şiddet skoru hesaplandı. Bakılan varyant dağılımları ile kolşisin direnci, kolşisin dozu ve kolşisin yan etki profili ilişkisi değerlendirildi.

Tüm hastalarımız MEFV mutasyonuna sahip gruptan seçildi. Mutasyon sıklığı ve dağılım paterni değerlendirildi. Literatüre bakıldığında Türkiye’deki MEFV mutasyon dağılımını değerlendiren AAA çalışma grubunun yaptığı 2838 vakayı kapsayan araştırmada en sık görülen mutasyonların sırasıyla M694V, M680I, V726A ve E148Q olduğu görülmüş. Başka bir çalışmada hastalarda M694V’den sonra sık görülen mutasyonlar benzer şekilde E148Q (%18), M680I (%15), V726A (%12.5), P369S (%3.3) olarak saptanmış (76). Bizim çalışmamızda da en sık görülen MEFV mutasyonu M694V homozigottu. Ancak daha önceki çalışmalardan farklı olarak bunu ikinci sıklıkla M694V/R202Q takip etmekteydi. Diğer mutasyonlar sıklık sırasına göre M694V heterozigot, E148Q heterozigot, R202Q homozigottu. Literatüre bakıldığında son yapılan çalışmalarda sağlıklı toplum ile AAA tanılı hastalar arasında R202Q mutasyonu görülme sıklığı karşılaştırılmış ve AAA tanılı hastalarda R202Q mutasyonunun daha sık olduğu gösterilmiş (26). Başka bir çalışmada 199 hastanın demografik özellikleri ve mutasyonları değerlendirildiğinde R202Q mutasyonu, M694V den sonra ikinci sıklıkta görülen mutasyon olduğu sonucuna varılmış (27).

Epidemiyolojik değerlendirme yapıldığında uzun yıllardır bilinen AAA’nın esas olarak Akdeniz’de yaşayan insanları etkilemesi iken yirminci yüzyılda seyahat ve göç nedeniyle dünya çapında da görülmeye başlandığı fark edildi (28). Türkiye’den yapılan farklı epidemiyolojik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sivas merkez, Sivas-Zara ve Tokat’ı içine alana bir epidemiyolojik araştırmada hastalık görülme sıklığı sırasıyla 3/1000, 8,8/1000 ve 8/1000 olarak bulunmuş (77). Kuzeybatıyı değerlendiren başka bir çalışmada sıklık 6/10.000

gibi düşük bir oran olarak tespit edilmiştir (78). Türk AAA çalışma grubunun yaptığı araştırmada AAA vakalarının %70'e yakınının İç Anadolu, Orta Karadeniz ve Doğu Anadolu kökenli olduğu görülmüş. Bilinenin aksine Akdeniz dışı bölgelerde daha sık görülmesini göçler ve çalışmaya alınan hasta gruplarının yer aldığı bölgelerin homojen olmaması ile ilişkilendirmişlerdir (19). Bizim çalışmamızda ise hastaların %41,8'inin Akdeniz Bölgesi'ndeki şehirlerden köken aldığı görülmüştür. Oranın bu derece yüksek çıkmasını hastanenin bu bölgede olması ile ilişkilendirmek mümkündür.

Hastaların başvuru anındaki yakınmalarına bakıldığında en sık başvuru şikâyeti önceki çalışmalarla benzer şekilde karın ağrısıydı, ateş ikinci sıklıkta görülen semptomdu. Eklem ağrısı ve artrit yakınmaları %64,5 oranıyla literatürle benzer şekilde üçüncü sıklıkla görülen başvuru şikayetlerindendi (76).

Hastaların 55'i kız (%44,4), 69'u erkek (%55,6) idi, AAA görülme sıklığı cinsiyet dağılımı açısından daha önceki çalışmalarda da gösterildiği gibi benzerdi (19).

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji Kliniğimizde AAA tanısı konulurken Türk Pediatrik Tanı Kriterleri kullanılmaktadır. Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalarımızın tamamı bu kriterlere göre tanı aldı ve izlem süresi en az 1 yıl olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Takiplerde ilaç uyumu, düzenli ve yeterli dozda ilaç kullanımı sorgulandı. Böylece hastalarda kolşisin direnci varlığı sorgulandı. Bunun için de Özen ve arkadaşları tarafından (75) ortaya konulan direnç tanımlaması kullanıldı: 6 ay ve üzeri süresi boyunca maksimum dozdan kolşisin kullanımına rağmen her ay en az 1 atak görülmesi kolşisin direnci olarak kabul edildi. Hastalarımızın 16'sında (%12,9) kolşisin direnci vardı. Literatürde de çalışmamızla benzer şekilde %5-15 oranında kolşisin direnci varlığından bahsedilmektedir (66). Dirençli hastaların MEFV mutasyon dağılımına bakıldığından M694V homozigot MEFV mutasyonu ile kolşisin yanıtızlığının ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (79). Bizim çalışmamızda da kolşisin dirençli grupta en sık görülen MEFV mutasyonu M694V homozigot (%62,5) olarak saptandı.

Kolşisin teröpatik doz aralığı oldukça dar olan bir ilaçtır, biyoyararlanım açısından bireysel farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca ilaç-ilac etkileşimi

sonucu da metabolizmasının değiştiği bilinmektedir. Bütün bu özelliklerin kolęisin metabolizmasında etkili olan CYP450 enzim ailesi ve P glycoprotein (MDR1) proteinlerinin bireyler arasındaki genetik varyasyonundan kaynaklandığı ve kolęisin kan düzeyine etki ederek direnç gelişiminde rol alabileceği düşünülmektedir (66,69,70).

MDR1 3435C>T varyant dağılımı ile kolęisin yanıtı arasındaki ilişkinin değerlendirildiği 120 yetişkin AAA tanılı hastanın dahil edildiği bir çalışmada kolęisin rezistansının C allel ile ilişkisi anlamlı bulunmuş ve TT allelinde kolęisin yanıtının daha iyi olduğu gösterilmiş (71). Dogruer ve arkadaşları (80) tarafından CYP3A4 ve MDR1 varyantları ile kolęisin kullanım dozu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise anlamlı bir fark olmadığı görölmüş. Başka bir başka çalışmada ise 58 kolęisin dirençli 47 kolęisin yanıtli hastada MDR1 3435C>T varyant dağılımı ve lenfosit kolęisin düzeyi ile kolęisin yanıtı ilişkisine bakılmış. Dirençli grupta lenfosit kolęisin düzeyi daha düşük bulunmuş ancak kolęisin kan düzeyi ile C ve T allel dağılımı arasında bir ilişki gösterilememiş. Allel sıklığı açısından bakıldığında ise diğer çalışmaların aksine TT varyantı ile kolęisin direncinin ilişkili olduğu gösterilmiş. Elde edilen sonucu ise daha önce yapılmış ve TT allel varlığı ile MDR1 gen ürünü olan P-glycoprotein ekspresyonunun ters orantılı olduğunu gösteren çalışmadaki(58) sonuçlarla ilişkilendirmişlerdir (81). Bizim çalışmamızda ise kolęisin direnci ile MDR1 c.3435C>T varyant ve allel dağılımı değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki olmadığı göröldü. Hastalarımızın kolęisin kullanım dozu günlük ortalama $0,0346 \pm 0,015$ mg/kg/gündü ve hastaların 90 (%72,6)'ı $<1,2$ mg/m²/gün dozda kolęisin kullanmaktaydı. Varyant ve allel dağılımı ile doz ilişkisinde TT varyanta sahip hastaların %90'ının $<1,2$ mg/m²/gün kolęisin kullandığını gördük, istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,035). Daha önce yapılan bir çalışmada MDR1 varyant dağılımı ile metabolizmasında önemli rol oynadığı digoksin kan düzeyi ilişkisi değerlendirilmiş ve TT varyantına sahip hastalarda P-glycoprotein düzeyinin CC varyanttakilere göre daha düşük, kan digoksin düzeyinin ise daha yüksek olduğu gösterilmiş (58). Kan kolęisin düzeyi bakamamak çalışmamızın kısıtlılığıydı. Ancak mevcut bulgularla benzer şekilde TT (mutant) varyantta kan kolęisin düzeyinin daha yüksek olduğu düşünölrse bu hastaların hastalığının kontrol altına almakta daha düşük dozlarda kolęisinin

yeterli olduğu sonucuna varmak mümkündür. Çalışmamızda hastalarla yapılan klinik görüşmeler ve laboratuvar değerlendirmeleri sonucu hastaların hastalık şiddetini sınıfladık. Hastaların çoğu başvuru esnasında orta şiddetli hastalık kriterlerini karşılıyordu. Başvuru esnasındaki hastalık şiddeti ile varyant dağılımı arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Ancak bununla beraber bu hastalarda ISSF ile yapılan değerlendirmede tedavi sonrası skorlar mutant grupta diğeri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p=0,016$). Bu sonucu da daha önce yapılmış TT varyant ile kolşisin direncinin bağlantılı olduğunu göstermiş çalışmalarla ilişkilendirmek mümkün görünmektedir.

Rüstemoğlu ve arkadaşları (82) tarafından Türk toplumundaki MDR1 allel dağılımını ve AAA hastaları ile kontrol hastaları arasındaki allel dağılım farklılığını göstermek için yapılan çalışmada 142 AAA tanılı hasta, 130 kontrol grubu çalışmaya alınmış. Sonuçta MDR1 heterozigot değişikliğinin AAA tanılı grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüş. Bu genotipin AAA patogeneğinde etkili olabileceği düşünülmüş. Ancak bizim çalışmamızda C-T allel dağılımının ve varyant dağılımı hasta ve kontrol grubunda benzer oranlardaydı. Varyant dağılımı ile klinik özellikler ve kolşisin yan etkisi açısından değerlendirme yapıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

CYP3A41B(-392A>G) proteini CYP450 enzim ailesindendir ve çoğu ilacın metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada CYP3A4 ile metabolize olan 16 farklı substratın metabolizasyonu değerlendirilmiş ve %90 oranında bireysel farklılık olduğu gösterilmiş (45). Kolşisin gibi hem P-glycoprotein hem de CYP3A4 substratı olan takrolimusun renal transplant sonrası kan düzeyi ile varyant dağılımı ilişkisini gösteren bir metaanalizde kan takrolimus düzeyi ile varyant dağılımı arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiş (83,84). Yapılan çalışmalarda CYP3A41B ile ilaç klirensi değerlendirildiğinde patolojik allelde ilaç klirensinin daha az olduğu görülmüş (85). Bu bulgu ile örtüşecek şekilde AA varyantının transkripsiyonal faktöre bağlanarak gen ekspresyonunu arttırıp CYP3A4 enzim aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir (85,86). Başka bir çalışmada 30 epilepsi tanılı çocuk değerlendirilmiş, antiepileptiklere yanıtı 23 hasta ile nöbetleri kontrol altında olan 7 hastada CYP3A41B varyant dağılımına bakıldığında dirençli grupta AA tip anlamlı olacak şekilde daha fazla bulunmuş,

elde edilen veriler yine AA tipte ilaç klirensinin fazla olması ile ilişkilendirilmiş (87). Çalışmamızda varyant dağılımına bakıldığında daha önceki çalışmalarla benzer şekilde, hasta ve kontrol grubunda sırasıyla %2,4 ve %3,3 oranlarında heterozigot değişiklik saptandı (80). Her iki grupta da mutant değişiklik yoktu. Gruplar arasında dağılım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Kolşisin direnci ve allel dağılımı ile varyant dağılımı karşılaştırıldığında G allelde %33 oranında kolşisin direnci varken A allelde bu oran %13 idi. Kolşisin kullanım dozuna bakıldığında ise G allele sahip hastaların çoğu (%66) $<1,2 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ dozda kolşisin kullanıyordu. Ancak örnek azlığı nedeni ile sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi.

CYP2D6, CYP450 enzim ailesinin diğer bir üyesidir ve ksenobiyotikler, karsinojenler gibi çeşitli ilaçların oksidatif biyotransformasyonunda rol oynar (59). Bireyler CYP2D6 genotipik farklılığa göre yavaş, orta, hızlı ve ultra hızlı metabolizörler olarak ayrılır. Yavaş metabolizör olan bireylerde CYP2D6 fonksiyonel allel yokluğundan bahsedilir, ultra hızlı metabolizör olanlarda ise 2'den fazla fonksiyonel allel vardır. Yavaş ve orta metabolizör olanlar azalmış ilaç etkinliği açısından risk taşımaktadır. Bununla beraber ultra hızlı metabolizör olanlar ise teröpatik başarısızlık ve oluşacak toksik metabolitler nedeni ile ilaç yan etkileri açısından risk taşıdığı bilinmektedir (60). Bu genetik farklılıkların sitokrom P450 enzim ailesi ile metabolize olduğu bilinen kolşisinin de farmakogenetiğinde etkili olacağı düşünülmektedir. CYP2D6*4 1934G>A ve CYP2D6*3 2637delA varyant dağılımı ile klinik özellikler ve kolşisin yanıtını değerlendirdiğimiz çalışmamızda CYP2D6*4 için hasta ve kontrol grubundaki heterozigot ve mutant sıklığı sırasıyla ise %33,6/%3,2 ve %21,6/%2,7 olarak bulundu. CYP2D6*3 ise tüm bireylerde wild type olarak bulundu, patolojik allel yoktu. Sonuçlardaki sıklık önceki çalışmalarla benzerdi (88–90).

Cyp2D6*4 1934AA (mutant), yavaş metabolizör olarak bilinmektedir. Türkiye'den yapılmış bir çalışmada kolşisin direnci ile CYP2D6*1, *3, *4, *5 ve *6 ilişkisi değerlendirilmiş. Kolşisin rezistansı olan 60 hasta ile kolşisine yanıtı 30 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve CYP2D6 *4 ve *6 patolojik allel sıklığının kolşisin yanıtsız grupta daha yüksek olduğu bulunmuş (72). İlaç dozu ve CYP2D6*4 varyantı ilişkisini özellikle antidepresan ilaçlarda değerlendiren

birçok çalışma mevcuttur. 1198 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada antideprasan kullanımı ile CY2PD6*4 ilişkisine bakıldığında yavaş metabolizör olanların ilaç kullanım dozunun daha düşük olduğu ve yine bu grupta etkisiz tedavi nedeni ile ilaç değişim oranının daha yüksek olduğu görülmüştür (91). Bizim çalışmamızda ise kolşisin direnci ile allel ve varyant dağılımına bakıldığında A ve G allellerin kolşisin direnci ile direkt ilişkisi gösterilemedi. Kolşisin kullanım dozu ile varyant dağılımı ilişkisinde ise patolojik allelde (mutant), diğer varyantlara göre kolşisin kullanım dozunun (mg/kg/gün) istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu görüldü. Patolojik AA varyantının yavaş metabolizör olması nedeni ile daha yüksek kan kolşisin düzeyi sağlayacağı bu nedenle bu grupta daha düşük kolşisin dozunun tedavi yönetimi için yeterli olacağı sonucuna varılabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kliniğimizde AAA tanısı ile takip edilen ve kolşisin kullanan 122 çocuk ve 60 sağlıklı çocuk araştırmaya dahil edilerek MDR1 c.3435C>T (rs1045642), CYP3A41b c.-392G>A (rs2740574), CYP2D6*4 c.1934G>A (rs3892097) ve CYP2D6*3 c.2637Adel (rs35742686) varyantları PCR yöntemi ile incelendi. Hastaların demografik, klinik verileri ve MEFV genotipleri değerlendirildi.

Araştırmaya dahil edilen hastaların 55'i kız (%44,4), 69'u erkek; yaş ortalaması 11,41±4,2 yaş; izlem süresi 56,5±52,9 ay idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 9,15±4,8 yaş (3-18 yaş) bulundu. Hastaların %41,8'i Akdeniz bölgesinden köken almaktaydı.

En sık görülen MEFV mutasyonu M694V, 2. sıklıkta görülen ise M694V/R2020Q olarak bulundu.

En sık başvuru yakınması karın ağrısıydı, ikinci sıklıkta ateş görüldü.

Hastaların çoğu (%69,4) ISSF'ye göre orta şiddette hastalık yakınması ile başvurmuştu.

Kolşisin direnci %12,9 oranında saptandı.

MDR1 (c.3435C>T) varyant ve allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamadı, ancak kolşisin kullanım dozu ile ilişkiye bakıldığında TT varyantta kolşisin kullanım dozunun daha düşük olduğu görüldü (p=0,035). Bu sonuç ise TT varyant P-glycoprotein pompa sentez azlığı ve bu nedenle kolşisinin kan seviyesinin daha yüksek olacağı ile ilişkilendirildi. ISSF değerlerine göre varyant dağılımlarına bakıldığında tedavi sonrası mutant gruptaki puan değerleri wild type varyanta sahip hastalara göre anlamlı derecede yüksekti (p=0,016), bunu da literatürdeki çalışmalar da göz önünde bulundurduğumuzda kolşisin yanıtıslığı ile ilişkilendirmek mümkündür.

CYP3A41B (-392A>G) allel dağılımı ve varyant dağılımı ile kolşisin direnci karşılaştırıldığında G allelde %33 oranında kolşisin direnci varken A allelde bu oran %13 idi. Kolşisin kullanım dozuna bakıldığında ise G allele sahip hastaların çoğu (%66) <1,2 mg/m²/gün dozda kolşisin kullanıyordu. Ancak örnek azlığı nedeni ile sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı düşünüldü.

CYP2D6*4 1934G>A allel dağılımı ve varyant dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisinde A ve G allellerin kolşisin direnci ile direkt ilişkisi gösterilemedi. Kolşisin kullanım dozu ile varyant dağılımı ilişkisinde ise patolojik allelde (mutant), diğer varyantlara göre kolşisin kullanım dozunun (mg/kg/gün) istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu görüldü. Patolojik AA varyantının yavaş metabolizör olması nedeni ile daha yüksek kan kolşisin düzeyi sağlayacağı bu nedenle bu grupta daha düşük kolşisin dozunun tedavi yönetimi için yeterli olacağı sonucuna varıldı.

CYP2D6*3 2637delA literatürle benzer şekilde çalışmaya dahil edilenlerin tümünde wild type bulundu.

Varyant sıklığı açısından kontrol grubu ve hasta grubuna bakıldığında aslında patolojik varyant diye nitelendirdiğimiz mutasyonların her iki grupta da benzer oranlarda olduğunu gördük. Ancak ilaç kullanımı sırasında etkileri ortaya çıkacak olan bu genetik varyasyon, hastaların ilaç dozunun düzenlenmesinde ve tedaviye alınacak yanıtın öngörülmesinde oldukça değerlidir. Bireyler arası değişikliklerin önceden bilinmesinin tedavi düzenlenmesinde yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Biz de mevcut çalışmamızın kliniğimizdeki AAA'li çocuklarda, kolşisin tedavisi başlanmadan önce farmakogenetik değerlendirme uygulamasının başlatılabilmesi için yol gösterici olabileceği düşündük

7. ÖZET

Ailesel Akdeniz Ateşi Tanısı İle İzlenmekte Olan Çocuklarda CYP3A4, CYP2D6 Ve MDR1 Gen Varyantlarının Hastalık Şiddeti İle İlişkisinin Değerlendirilmesi

En sık görülen Mendelian otoinflatuar sendrom olan Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA), otozomal resesif kalıtlı ve MEditerranean FeVer (MEFV) gen mutasyonlarından kaynaklanır. AAA tedavisinde kullanılan temel ilaç kolşisinidir. CYP3A4 ve CYP2D6 (CYP450 enzim ailesinden) ve bir transport proteini olan MDR1 kolşisin metabolizmasından sorumlu moleküllerdir. Çalışmamızda AAA tanılı çocuklarda CYP2D6, MDR1 ve CYP3A4 geninde yer alan değişiklikler ile klinik özellikler, kolşisin dozu ve tedavi direnci arasındaki ilişkinin değerlendirildi.

Kliniğimizde AAA tanısı ile takip edilen ve kolşisin kullanan 122 çocuk ve 60 sağlıklı çocuk araştırmaya dahil edilerek MDR1 c.3435C>T (rs1045642), CYP3A41b c.-392G>A (rs2740574), CYP2D6*4 c.1934G>A (rs3892097) ve CYP2D6*3 c.2637A>del (rs35742686) varyantları PCR yöntemi ile incelendi. Hastaların demografik, klinik verilerine ve MEFV genotiplerine bakıldı.

Araştırmaya dahil edilen hastaların 55'i kız (%44,4), 69'u erkek; yaş ortalaması 11,41±4,2 yaş; izlem süresi 56,5±52,9 ay idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 9,15±4,8 yaş (3-18 yaş) ve cinsiyet dağılımı hasta grubu ile benzer bulundu. Hastaların %41,8'i Akdeniz bölgesinden köken almaktaydı. Hastaların çoğu (%69,4) ISSF'ye göre orta şiddette semptomlarla başvurmuştu. Hastaların 50'sinde (%40,3) homozigot, 47'sinde (%37,9) birleşik heterozigot, 27'sinde (%21,8) heterozigot MEFV gen mutasyonu vardı. En sık görülen MEFV mutasyonu M694V, 2. sıklıkta görülen ise M694V/R2020Q olarak bulundu. Kolşisin dirençli grupta en sık görülen MEFV mutasyonu ise M694V homozigot (%62,5) olarak saptandı. Tüm hastalar kolşisin tedavisi alıyordu. Hastaların 34'ü (%27,4) >1,2 mg/m²/gün kolşisin alırken hastalığı kontrol altındaydı. Kolşisin direnci 16 hastada vardı (%12,9). Bu hastaların 5'i kolşisinin magnezyum içeren formunu kullanmaktaydı. Diğerlerinin ise 5'i kanakinumab, biri etanersept

tedavisi alıyordu. MDR1 varyant dağılımı hasta ve kontrol grubunda benzerdi, ($p=0,838$). Allel dağılımına bakıldığında ise hastaların %63,9'u, kontrol grubunun ise %70'i T alleleline sahipti. MDR1 varyant ve allel dağılımı ile kolşisin direnci ilişkisi değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamadı. Kolşisin kullanım dozu ile ilişkiye bakıldığında ise TT varyantta kolşisin kullanım dozunun daha düşük olduğu görüldü ($p=0,035$). Bu sonuç ise TT varyant P-glycoprotein pompa sentez azlığı ve bu nedenle kolşisinin kan seviyesinin daha yüksek olacağı ile ilişkilendirildi. ISSF değerlerine göre varyant dağılımlarına bakıldığında tedavi sonrası mutant gruptaki puan değerleri wild type hastalara göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0,016$), bu sonuç literatürdeki çalışmalar da göz önünde bulundurularak kolşisin yanıtızlığı ile ilişkilendirildi. CYP3A41b varyant dağılımına bakıldığında daha önceki çalışmalarla benzer şekilde, hasta ve kontrol grubunda sırasıyla %2,4 ve %3,3 oranlarında heterozigot değişiklik saptandı, her iki grupta da mutant değişikliğe rastlanmadı. Kolşisin direnci ve allel dağılımı ile varyant dağılımı karşılaştırıldığında G allelede %33 oranında kolşisin direnci var iken A allelede bu oran %13 idi. Kolşisin kullanım dozuna bakıldığında ise G allele sahip hastaların çoğu (%66) $<1,2 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ dozda kolşisin kullanıyordu. Gruplar arasındaki dağılım istatistiksel olarak anlamlı değildi. CYP2D6*4 için hasta ve kontrol grubundaki hetetozigot ve mutant sıklığı sırasıyla önceki çalışmalarla benzer şekilde %33,6/%3,2 ve %21,6/%2,7 olarak bulundu. Kolşisin direnci ile allel ve varyant dağılımına bakıldığında A ve G allellerin kolşisin direnci ile direkt ilişkisi gösterilemedi. Kolşisin kullanım dozu ile varyant dağılımı ilişkisinde ise patolojik allelede (mutant), diğer varyantlara göre kolşisin kullanım dozunun (mg/kg/gün) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü ($p=0,011$, $p=0,033$). Patolojik AA varyantının yavaş metabolizör olması nedeni ile daha yüksek kan kolşisin düzeyi sağlayacağı bu nedenle bu grupta daha düşük kolşisin dozunun tedavi yönetimi için yeterli olacağı sonucuna varıldı. CYP2D6*3 ise literatürle benzer şekilde tüm bireylerde wild type olarak bulundu, patolojik allel yoktu.

Elde edilen veriler kolşisin metabolizmasında rol alan enzimleri kodlayan genlerdeki varyasyonların, hastalığı kontrol altına almak için gerekli olan kolşisin dozunu değiştirdiğini düşündürmektedir. Tedavi başlanmadan önce bu

değişikliklerin bilinmesi, hastalarda bireysel tedavi dozu düzenlenmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: AAA, kolşisin, genetik varyasyon



8. ABSTRACT

Tezin adının İngilizcesi

Türkçe özetin İngilizcesi

Key Words: Türkçe özetteki anahtar kelimelerin İngilizceleri

Türkçe özetle olduğu gibi 3 sayfa ayrıldı

Abstract 2. Sayfa



Abstract 3. Sayfa



9. KAYNAKLAR

1. 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.
2. Barron KS, Kastner DL. Periodic Fever Syndromes and Other Inherited Autoinflammatory Diseases. *Text Pediatr Rheumatol* 2011; 642–60. DOI: 10.1016/B978-1-4160-6581-4.10043-3
3. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40(10): 1879–85.
4. Yalçinkaya F, Özen S, Özçakar ZB, Aktay N, Çakar N, Düzova A, et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology* 2009; 48(4): 395-8.
5. Ozen S, Kone-Paut I, Gül A. Colchicine resistance and intolerance in familial mediterranean fever: Definition, causes, and alternative treatments. *Semin Arthritis Rheum* 2017; 47(1): 115–20.
6. Dasgeb B, Kornreich D, McGuinn K, Okon L, Brownell I, Sackett DL. Colchicine: an ancient drug with novel applications. *Br J Dermatol* 2018; 178(2): 350–6.
7. Demirkaya E, Acikel C, Hashkes P, Gattorno M, Gul A, Ozdogan H, et al. Development and initial validation of international severity scoring system for familial Mediterranean fever (ISSF). *Ann Rheum Dis* 2016; 75(6): 1051–6.
8. Alghamdi M. Familial Mediterranean fever, review of the literature. *Clin Rheumatol* 2017; 36(8): 1707–13.
9. Stojanov S, Kastner DL. Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17(5): 586–99.
10. Janeway, TC, Mosenthal H. An unusual paroxysmal syndrome. Probably allied to recurrent vomiting, with a study of the nitrogen metabolism. *Trans Assoc Am Phys* 1908; 23(504): 18.
11. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med* 1945; 23: 1–21.
12. Marmaralı A. Garip bir karın ağrısı sendromu. *Türk Tıp Cem Mec* 1946; 12.
13. Tunca M. Colchicine 2011. 2012; 4(1): 11–6.

14. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, Balow JE, Prosen L, Dean M, et al. Mapping of a Gene Causing Familial Mediterranean Fever to the Short Arm of Chromosome 16. *N Engl J Med* 1992; 4; 326(23): 1509–13.
15. Localization of the familial Mediterranean fever gene (FMF) to a 250-kb interval in non-Ashkenazi Jewish founder haplotypes. The French FMF Consortium. *Am J Hum Genet* 1996; 59(3): 603–12.
16. The International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely the cause familial Mediteranean fever. In 1997. *Cell* 1997; 90(4): 797-807.
17. French FMF Consortium, Bernot A, Clepet C, Dasilva C, Devaud C, Petit J-L, et al. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997; 17(1): 25–31.
18. Roberts RL, Stamp LK. Pharmacogenetic considerations in the treatment of gout. *Pharmacogenomics* 2015; 16(6): 619-29.
19. Tunca M, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, Ozen S, Topaloglu R, et al. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey: Results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84(1): 1–11.
20. Park H, Bourla AB, Kastner DL, Colbert RA, Siegel RM. Lighting the fires within: the cell biology of autoinflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(8): 570–80.
21. 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.
22. Papin S, Cuenin S, Agostini L, Martinon F, Werner S, Beer H-D, 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.
23. Hesker PR, Nguyen M, Kovarova M, Ting JP-Y, Koller BH. Genetic Loss of Murine Pyrin, the Familial Mediterranean Fever Protein, Increases Interleukin-1 β Levels. Ojcius DM, editor. *PLoS One* 2012; 7(11): 51105.
24. Ryan JG, Masters SL, Booty MG, Habal N, Alexander JD, Barham BK, et al. Clinical features and functional significance of the P369S/R408Q variant in pyrin, the familial Mediterranean fever protein. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(7): 1383–8.
25. Ben-Chetrit E, Touitou I. Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum* 2009; 61(10): 1447–53.

26. 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.
27. Sönmezgöz E, Özer S, Gül A, Yılmaz R, Kasap T, Takcı Ş, et al. Clinical and Demographic Evaluation According to MEFV Genes in Patients with Familial Mediterranean Fever. *Biochem Genet* 2019; 57(2): 289–300.
28. Ozdogan H, Ugurlu S. Familial Mediterranean Fever. *Press Medica* 2019; 48(1): 61–76.
29. Mimouni A, Magal N, Stoffman N, Shohat T, Minasian A, Krasnov M, et al. Familial Mediterranean fever: effects of genotype and ethnicity on inflammatory attacks and amyloidosis. *Pediatrics* 2000; 105(5): E70.
30. Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, et al. Familial Mediterranean Fever in Japan. *Medicine (Baltimore)* 2012; 91(6): 337–43.
31. Shohat M, Magal N, Shohat T, Chen X, Dagan T, Mimouni A, et al. Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. *Eur J Hum Genet* 1999; 7(3): 287–92.
32. Toplak N, Frenkel J, Ozen S, Lachmann HJ, Woo P, Koné-Paut I, et al. An International registry on Autoinflammatory diseases: the Eurofever experience. *Ann Rheum Dis* 2012; 71(7): 1177–82.
33. 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(2): 227–53.
34. 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.
35. Sari I, Birlik M, Kasifoglu T. Familial Mediterranean fever: An updated review. *Eur J Rheumatol* 2014; 1(1): 21–33.
36. Ince E, Cakar N, Tekin M, Kendirli T, Ozkaya N, Akar N, et al. Arthritis in children with familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 2002; 21(6): 213–7.
37. Barzilai A, Langevitz P, Goldberg I, Kopolovic J, Livneh A, Pras M, et al. Erysipelas-like erythema of familial Mediterranean fever: clinicopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42(5 Pt 1): 791–5.
38. Gershoni-Baruch R, Broza Y, Brik R. Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in Henoch-Schönlein purpura. *J Pediatr* 2003; 143(5): 658–61.

39. Kasifoglu T, Bilge SY, Sari I, Solmaz D, Senel S, Emmungil H, et al. Amyloidosis and its related factors in Turkish patients with familial Mediterranean fever: a multicentre study. *Rheumatology* 2014; 53(4):741–5.
40. Yilmaz E, Balci B, Kutlay S, Ozen S, Ertürk S, Oner A, et al. Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF-alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. *Turk J Pediatr* 2003; 45(3): 198–202.
41. Sayhan, N. MEFV gene analysis in familial Mediterranean fever patients from Turkey: prognostic value of M694V homozygous phenotype. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 286.
42. Korkmaz C, Ozdogan H, Kasapçopur O, Yazici H. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(1): 79–81.
43. Bakkaloglu A. Familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol* 2003; 18(9): 853–9.
44. Lidar M, Livneh A. Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med* 2007; 65(9): 318–24.
45. Mor A, Shinar Y, Zaks N, Langevitz P, Chetrit A, Shtrasburg S, et al. Evaluation of Disease Severity in Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35(1): 57–64.
46. Pras E, Livneh A, Balow JE, Pras E, Kastner DL, Pras M, et al. Clinical differences between North African and Iraqi Jews with familial Mediterranean fever. *Am J Med Genet* 1998; 75(2): 216–9.
47. Ozen S, Bilginer Y, Aktay Ayaz N, Calguneri M. Anti-interleukin 1 treatment for patients with familial Mediterranean fever resistant to colchicine. *J Rheumatol* 2011; 38(3): 516–8.
48. Hashkes P. Rilonacept (IL-1 TRAP) for treatment of colchicine resistant familial mediterranean fever (FMF): a randomized, multicenter double-blinded, alternating treatment trial. *Pediatr Rheumatol Online J* 2011; 9(Suppl 1) O38. 2011; 9(suppl1): o38.
49. Ozdogan H, Ugurlu S. Canakinumab for the treatment of familial Mediterranean fever. *Expert Rev Clin Immunol* 2017; 13(5): 393-404.
50. De Benedetti F, Gattorno M, Anton J, Ben-Chetrit E, Frenkel J, Hoffman HM, et al. Canakinumab for the Treatment of Autoinflammatory Recurrent Fever Syndromes. *N Engl J Med* 2018; 378(20): 1908–19.
51. Wang DQH, Bonfrate L, de Bari O, Wang T, Portincasa P. Familial Mediterranean fever: From pathogenesis to treatment. *J Genet Syndr Gene Ther* 2014; 5: 1–11.

52. 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.
53. Onat AM, Oztürk MA, Ozçakar L, Ureten K, Kaymak SU, Kiraz S, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors reduce the attack frequency in familial mediterranean Fever. *Tohoku J Exp Med* 2007; 211(1): 9–14.
54. Onat AM, Ozçakar L, Oztürk MA, Uçar G, Ureten K, Dagli N, et al. Plasma and platelet serotonin levels in familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25(4 Suppl 45): 16-20.
55. Zemer D, Pras M, Sohar E, Modan M, Cabili S, Gafni J. Colchicine in the prevention and treatment of the amyloidosis of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 1986; 314(16): 1001–5.
56. Erden A, Batu ED, Sarı A, Sönmez HE, Armagan B, Demir S, et al. Which definition should be used to determine colchicine resistance among patients with familial Mediterranean fever? *Clin Exp Rheumatol* 36(6 Suppl 115):97–102.
57. Niel E, Scherrmann J-M. Colchicine today. *Joint Bone Spine* 2006; 73(6): 672–8.
58. Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schäffeler E, Fischer J, Schwab M, et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics* 2001; 11(4): 293–8.
59. Pratt VM, Zehnbaauer B, Wilson JA, Baak R, Babic N, Bettinotti M, et al. Characterization of 107 genomic DNA reference materials for CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, VKORC1, and UGT1A1: a GeT-RM and Association for Molecular Pathology collaborative project. *J Mol Diagn* 2010; 12(6): 835–46.
60. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001; 286(18): 2270–9.
61. Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schröder T, et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 66(2): 185–92.
62. Yuksel N. Sitokrom P450 Enzim Sistemi ve İlaç Etkileşimleri. *Klin Psikiyatr* 2001; 5–16.

63. Hentgen V, Grateau G, Kone-Paut I, Livneh A, Padeh S, Rozenbaum M, et al. Evidence-based recommendations for the practical management of Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum* 2013; 43(3): 387–91.
64. Kallinich T, Haffner D, Niehues T, Huss K, Lainka E, Neudorf U, et al. Colchicine use in children and adolescents with familial Mediterranean fever: literature review and consensus statement. *Pediatrics* 2007; 119(2): e474-83.
65. Berkun Y, Wason S, Brik R, Butbul Y, Ben-Chetrit E, Hashkes PJ, et al. Pharmacokinetics and Colchicine in Pediatric and Adult Patients with Familial Mediterranean Fever. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25(4): 1121–30.
66. Ben-Chetrit E, Aamar S. About colchicine compliance, resistance and virulence. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27(2 Suppl 53): 1-3.
67. Ozturk MA, Kanbay M, Kasapoglu B, Onat AM, Guz G, Furst DE, et al. Therapeutic approach to familial Mediterranean fever: a review update. *Clin Exp Rheumatol* 2011; 29(4 Suppl 67): 77-86.
68. Diav-Citrin O, Shechtman S, Schwartz V, Avgil-Tsadok M, Finkel-Pekarsky V, Wajnberg R, et al. Pregnancy outcome after in utero exposure to colchicine. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203(2): 144.e1-6.
69. Dahan A, Sabit H, Amidon GL. Multiple efflux pumps are involved in the transepithelial transport of colchicine: combined effect of p-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein 2 leads to decreased intestinal absorption throughout the entire small intestine. *Drug Metab Dispos* 2009; 37(10): 2028–36.
70. Tateishi T, Soucek P, Caraco Y, Guengerich FP, Wood AJ. Colchicine biotransformation by human liver microsomes. Identification of CYP3A4 as the major isoform responsible for colchicine demethylation. *Biochem Pharmacol* [Internet] 1997 [cited 2019 May 15]; 53(1): 111–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8960070>
71. Tufan A, Babaoglu MO, Akdogan A, Yasar U, Calguneri M, Kalyoncu U, et al. Association of drug transporter gene ABCB1 (MDR1) 3435C to T polymorphism with colchicine response in familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* 2007; 34(7): 1540–4.
72. Yalcintepe S, Ozdemir O, Silan C, Ozen F, Uludag A, Candan F, et al. The CYP4502D6 *4 and *6 alleles are the molecular genetic markers for drug response: implications in colchicine non-responder FMF patients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2016; 41(3): 281–6.

73. Lidar M, Scherrmann J-M, Shinar Y, Chetrit A, Niel E, Gershoni-Baruch R, et al. Colchicine nonresponsiveness in familial Mediterranean fever: clinical, genetic, pharmacokinetic, and socioeconomic characterization. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33(4): 273–82.
74. Ben-Chetrit E, Ozdogan H. Non-response to colchicine in FMF--definition, causes and suggested solutions. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26(4 Suppl 50): 49-51.
75. 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.
76. Cekin N, Akyurek ME, Pinarbasi E, Ozen F. MEFV mutations and their relation to major clinical symptoms of Familial Mediterranean Fever. *Gene* 2017; 626: 9–13.
77. Onen F, Sumer H, Turkay S, Akyurek O, Tunca M, Ozdogan H. Increased frequency of familial Mediterranean fever in Central Anatolia, Turkey. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22(4 Suppl 34): 31-3.
78. Kisacik B, Yildirim B, Tasliyurt T, Ozyurt H, Ozyurt B, Yuce S, et al. Increased frequency of familial Mediterranean fever in northern Turkey: a population-based study. *Rheumatol Int* 2009; 29(11): 1307–9.
79. Soylemezoglu O, Arga M, Fidan K, Gonen S, Emeksiz HC, Hasanoglu E, et al. Unresponsiveness to Colchicine Therapy in Patients with Familial Mediterranean Fever Homozygous for the M694V Mutation. *J Rheumatol* 2010; 37(1): 182–9.
80. Dogruer D, Tug E, Bes C, Soy M. Lack of an effect of CYP3A4 and MDR1 gene polymorphisms on colchicine pharmacogenetics in the treatment of Familial Mediterranean fever. *Genet Mol Res* 2013; 12(3): 3521–8.
81. Bezalel Y, Gershoni-Baruch R, Dagan E, Lidar M, Livneh A. The 3435T polymorphism in the ABCB1 gene and colchicine unresponsiveness in familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27(2 Suppl 53): 103-4. PMID: 19796545
82. Rüstemoğlu A, Gümüş-Akay G, Yigit S, Tasliyurt T. Analysis of common MDR1 (ABCB1) gene C1236T and C3435T polymorphisms in Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Genet Mol Res* 2011; 10(4): 3411–20.
83. Shi W-L, Tang H-L, Zhai S-D. Effects of the CYP3A4*1B Genetic Polymorphism on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Adult Renal Transplant Recipients: A Meta-Analysis. Stepkowski S, editor. *PLoS One* 2015; 10(6): e0127995.

84. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Alvarez V, López-Larrea C, Ortega F. A search for new CYP3A4 variants as determinants of tacrolimus dose requirements in renal-transplanted patients. *Pharmacogenet Genomics* 2013; 23(8): 445–8.
85. Hesselink D, Vangelder T, Vanschaik R, Balk A, Vanderheiden I, Vandam T, et al. Population pharmacokinetics of cyclosporine in kidney and heart transplant recipients and the influence of ethnicity and genetic polymorphisms in the and genes. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76(6): 545–56.
86. Hodges L, Markova SM, Chinn LW, Gow JM, Kroetz DL, Klein TE, et al. Very important phamacogene summary ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenet Genomics* 2011; 21(3): 152–61.
87. López-García MA, Feria-Romero IA, Serrano H, Rayo-Mares D, Fagiolino P, Vázquez M, et al. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol Reports* 2017; 69(3): 504-11.
88. Serin A, Canan H, Alper B, Gulmen. M. The frequencies of mutated alleles of CYP2D6 gene in a Turkish population. *Forensic Sci Int* 2012; 222(1–3): 332–4.
89. Koseler A, Ilcol YO, Ulus IH. Frequency of Mutated Allele CYP2D6*4 in the Turkish Population. *Pharmacology* 2007; 79(4): 203–6.
90. Okat Z, Yaman K, Ucan Ciftci K, Toplayıcı S, Kurt E, Taga Y. Determination of CYP2D6*3 and *4 allele frequency among Turkish population. *J Surg Med* 2018; 2(3): 210–4. DOI: 10.28982/josam.416309
91. Bijl MJ, Visser LE, Hofman A, Vulto AG, van Gelder T, Stricker BHC, et al. Influence of the CYP2D6*4 polymorphism on dose, switching and discontinuation of antidepressants. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 65(4): 558–64.

10. EKLER

Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
2018

KARAR	
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI
	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:
	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON
	0 (242) 249 69 54
KARAR BİLGİLERİ	FAKS
	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA
	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU
	2012-KAEK-20
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	
Doç.Dr.Elif ÇOMAK	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	
Ailesel Akdeniz Ateşi Tanısı ile İzlenmekte Olan Çocuklarda CYP3A4, CYP2D6 ve MDR1 Gen Varyantlarının Hastalık Şiddeti ile İlişkisinin Değerlendirilmesi	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 175
	Tarih: 07.03.2018
Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

Yrd.Doç.Dr.M. Levent ÖZGÖNÜL
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Selahattin KUMRU
Üye

Prof.Dr.Öğüt D. BAYRAK
Üye

Doç.Dr.Banu NUR
Üye

Prof.Dr.Murat CANPOLAT
Üye

Prof.Dr.Bilge KARSLI
Üye

Doç.Dr.Gülşüm Özge BAYSAK
Üye

Yrd.Doç.Dr. Mehmet TÜRKAY
Üye

Prof.Dr. Ayda TAŞATARGİL
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Dilara İNAN
Üye

Prof.Dr.Veli YAZISIZ
Üye

Doç.Dr.Dijle KİPMEN KORGUN
Üye

Dr.Ünal HÜLÜR
Üye (İzinli)

Turgut ALTUN
Üye (İzinli)

Av.Mustafa AÇIKEL
Üye (İzinli)

Ek 2. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu



ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a. Araştırmanın Adı:

Ailesel Akdeniz Ateşi Tanısı ile İzlenmekte Olan Çocuklarda CYP3A4, CYP2D6 ve MDR1 Gen Varyantlarının Hastalık Şiddeti ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

b. Araştırmanın İçeriği:

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) en sık görülen mendelian otoinflatuar sendromdur. Otozomal resesif kalıtlı ve MEiterranean FeVer (MEFV) gen mutasyonlarından kaynaklanır. En sık görüldüğü toplumlar Türkler, Aşkenazi Yahudileri, Araplar, Ermeniler ve İtalyanlar olarak bildirilmiştir. Ülkemizde görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcılık sıklığı ise 1/5 oranındadır. AAA patogenezinin MEFV gen ürünü olan ‘‘pyrin/marenostrin’’in bozulmuş fonksiyonu sorumlu tutulmaktadır. Buna bağlı ortaya çıkan aşırı inflamasyon, klinik bulgulara neden olur. Tekrarlayan ataklar şeklinde ortaya çıkan ateş ve karın ağrısı en sık görülen bulgulardır. Ataklar sırasında perikardit, artrit, miyalji, erizipel benzeri döküntü, göğüs ağrısı, baş ağrısı, orşit ve nörolojik bulgular da görülebilir. Tedavi edilmeyen hastalarda görülen en ciddi komplikasyon ise amiloidoza bağlı kronik böbrek hastalığı gelişmesidir. AAA tanısında, hastanın semptomları, atak sırasında ve ataklar esnasındaki yakınmaları ve atak sırasında bakılan akut faz reaktanları yol göstericidir. Genetik olarak MEFV gen mutasyonlarının gösterilmesi tanıyı desteklemek için kullanılmaktadır. Kolşisin tedavide kullanılan temel ilaçtır. Etki mekanizmasındaki temel özellik inflamasyonu baskılamasıdır. Kolşisin karaciğerde CYP450 enzim ailesi ile metabolize edilir ve MDR1 transport proteini ile hücre içine taşınarak etki gösterir.

AAA tanılı çocuk hastalarda hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için farklı yöntemler önerilmiştir. Demirkaya ve arkadaşlarının oluşturduğu yapılandırılmış hastalık şiddet skoru değerlendirme yöntemi olan ‘‘International Severity Scoring System for Familial Mediterranean Fever (ISSF)’’ en çok kabul görendir. Ülkemizde ve farklı etnik gruplarda yapılan çok sayıda araştırmada hastalık şiddeti ile ilişkili risk faktörleri değerlendirilmiştir. MEFV mutasyonları ile hastaların fenotipik özellikleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Ancak bu hastalarda hastalık şiddeti ile CYP3A4, CYP2D6 ve MDR1 gen varyantları arasındaki ilişkiyi değerlendiren araştırma mevcut değildir. Ayrıca AAA hastalarında hastalık şiddetini en iyi şekilde değerlendirdiği ön görülen



“ISSF” skoru kullanılarak yapılmış genotip ve fenotip ilişkisini değerlendiren araştırma da bildiğimiz kadarı ile bulunmamaktadır.

Bu araştırmada, Çocuk Nefroloji kliniğimizde AAA tanısı ile takip edilmekte olan hastalarda genetik özellikler ile “ISSF” skorlaması kullanılarak ölçülecek hastalık şiddeti arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

c. Araştırmanın Amacı:

Bu araştırmada kliniğimizde “Ailesel Akdeniz Ateşi” tanısı ile izlenmekte olan çocuk hastalarda yeni kullanılmaya başlanan ISSF ile hesaplanan yapılandırılmış hastalık şiddet skoru ile CYP3A4, CYP2D6 ve MDR1 gen varyantları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

d. Araştırmanın Nedeni:

() Bilimsel araştırma

(X) Tez çalışması

e. Araştırmanın Öngörülen Süresi: 12 ay

f. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı: 180 kişi

g. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:

- Araştırmanın yürütüleceği ana merkez Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD’dır. Çocuk Nefroloji Bilim Dalı-Çocuk Romatoloji Ünitesinde, çalışmaya kabul edilen olguların klinik ve demografik özellikleri değerlendirilecektir. Olguların hedef gen bölgelerindeki DNA varyantlarının incelenmesi ve tanımlanması amacı ile günün herhangi bir saatinde çocuk hastalardan 5 ml periferik venöz kan örneği alınacaktır. Alınan kan örneğinin incelenmesi Tıbbi Genetik AD öğretim üyelerince SBAUM altyapısı kullanılarak gerçekleştirilecektir.

2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

- Periferik damardan kanın alınmasına bağlı kısa süreli ağrı ve iğnenin battığı bölgede geçici kızarıklık ve morluk gelişmesi dışında beklenen ciddi bir risk yoktur.

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:

Araştırmadan elde edilen verilerin AAA klinik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına, klinik özelliklerdeki farklılıkların belirlenmesi dağılım farklılıklarının saptanmasına, hastalık fenotipi (kliniği) ile hedef genlerdeki varyantların varlığı arasındaki ilişkinin belirlenmesine ve bu ilişkinin AAA olgularında yeni tedavi hedeflerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Adı- Soyadı:

Asistan Dr. Büşra Bilim Türkcan Telefon: 0.242.2496520

Doç.Dr. Elif ÇOMAK Telefon: 0.242.2496520

5. Zararların Karşılansısı:

Çalışmada ağır bir komplikasyon gelişmesi beklenmemekle birlikte, kan alım yerinde uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek kızarıklık, morarma, ağrı gibi komplikasyonların Doç.Dr. Elif ÇOMAK tarafından yerinde ve zamanında tıbbi müdahale yapılarak giderileceği bana bildirildi.

6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
 - Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
8. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

9. Gizlilik:

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

10. Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Aydınlatılmış Onam Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.



Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: Doç.Dr. Elif ÇOMAK

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:

Ek 3. Anamnez Formu (AAA Tanılı Hastalarda Hastalık Şiddeti Ve İlişkili Faktörlerin Değerlendirilmesi)

AAA TANILI HASTALARDA HASTALIK ŞİDDETİ VE İLİŞKİLİ FAKTÖRLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ADI SOYADI :

DOSYA NO:

DOĞUM TARİHİ:

DOĞUM YERİ (memleketi):

TELEFON:

MEFV mutasyonu:

2. Cinsiyet: 1. erkek 2. kız

3. Tedaviye Başlama yaşı:

4. Güncel Yaş:

6. Tanı tarihi: 5. İzlem süresi (ay):

7. Anne baba akrabalığı: 1. var 2. yok

8. Aile Öyküsü

AAA öyküsü:

KBY/Amiloidoz öyküsü:

Ailede benzer hastalık öyküsü:

Romatoid artrit/Ankilozan Spondilit/JIA:

Çölyak Hastalığı:

Crohn/Ülseratif Kolit:

Diğer periyodik ateş sendromları:

SLE:

PAN/Kutanöz vaskülit:

Behçet:

HSP:

Diğer:

9. Tanı gecikmesi/şikayet başlama yaşı

10. Tanı öncesi yakınmaları:

11. Öyküde AAA ile ilişkili olabilecek yakınmaların varlığı:

Karın ağrısı

Tekrarlayan ateş atakları

Eklem Tutulumu

Erizipel benzeri eritem

Göğüs ağrısı/Plörezi/perikardit

Rekürren miyalji

Uzamış febril miyalji

Livedoid vaskülopati

12. Kolşisin Dozu: mg/kg/gün

13. Kolşisine klinik yanıt: 1. var 2. yok 3.parsiyel yanıt

Proteinüri: 1.var 2.yok varsa değer:

Amiloidoz: 1.var 2.yok KBY: 1.var 2.yok

Büyüme gelişme geriliği: 1.var 2.yok

Boy/Kilo (persentil):

Splenomegali: FM ile 1.var 2.yok varsa USG sonucu:

16. Aldığı diğer tedaviler:.....

17. Kolşisine bağlı yan etkiler:

Klinik :

- Saç dökülmesi 1.var 2.yok

- Bulantı/kusma 1.var 2.yok

- İshal 1. var 2.yok

Laboratuar :

- anemi:

- lökopeni/nötropeni:

- trombositopeni:

- ALT yüksekliği:

Hastalık şiddeti ile ilişkili laboratuvar bulguları

-SAA

-Sedimentasyon

-CRP

-TİT

Hastalık şiddet skoru değerlendirme (ISSF):

	kriter	Puan Tedavi öncesi	Puan Tedavi sonrası
1	Kronik sekel (amiloidoz, büyüme geriliği, anemi, sprenomegali)	1	1
2	Organ disfonksiyonu (FMF ilişkili nefrotik düzeyde proteinüri)	1	1
3	Organ yetmezliği (renal, kardiyak, vb)	1	1
4a	Atak sıklığı ayda 1 veya 2 ise	1	1
4b	Atak sıklığı ayda 2 den fazla ise	2	2
5	Atak aralarında akut faz reaktanlarında yüksekliğin devam etmesi; CRP, sedimentasyon, serum amioide A, fibrinojen (son ataktan en az 2 hafta geçtikten sonra)	1	1
6	Atak sırasında sayılanlardan ikisinin görülmesi: perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis bulguları, miyalji	1	1
7	Hastalık süresince 2 farklı tip atak çeşidi olması (izole ateş, perikardit, plörit, peritonit, sinovit, erizipel benzeri eritem, testis bulguları, miyalji)	1	1
8	Atak süresi (yılda 3 atağın 72 saat ve daha uzun sürmesi)	1	1
9	Egzersizle bacak ağrısı (egzersiz ya da uzun süre oturma ile ortaya çıkan)	1	1
	>=6 :ciddi hastalık, 3-4 :orta şiddette, =<2 :hafif şiddette		

tedavi öncesi puan:

tedavi sonrası puan: