

# Ailevi akdeniz ateşi hastalığının moleküler temeli

Banu Peynircioğlu<sup>1</sup>, Engin Yılmaz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**A**ilevi Akdeniz Ateşi (AAA); özellikle Musevi, Arap, Ermeni ve Türk toplumlarında yaygın olarak görülen ve otozomal resesif olarak aktarılan bir otoinflamatuar hastalıktır [1]. AAA temel olarak; tekrarlayan ateş, karın ve eklem ağrıları gibi klinik bulgular göstermektedir. Hastalığın en ciddi komplikasyonu bazı vakalarda klinik tabloya amiloidoz eklenmesidir [2].

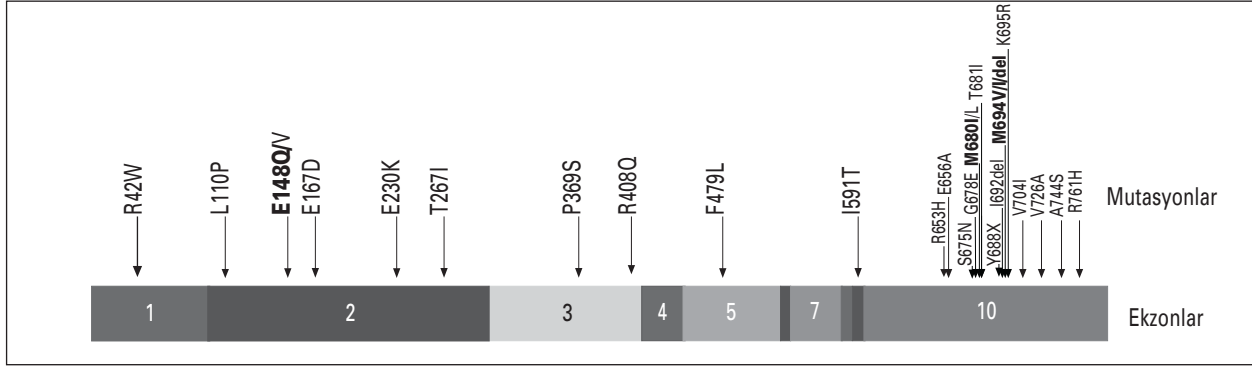
## **MEFV GENİ: MUTASYONLAR ve FENOTİP-GENOTİP İLİŞKİSİ**

AAA geni 1997 yılında iki farklı konsorsiyum (International FMF Consortium ve French FMF Consortium) tarafından klonlanmıştır. *MEFV* (Mediterranean Fever) adı verilen bu gen 3505 nükleotid içermekte ve 10 ekzondan oluşmaktadır. *MEFV* geni 781 aminoasitlik, Amerikalıların Pysin (Latince pyrexia: ateş düzenleyen protein), Fransızların Marenostirin (Latince Mareo nostrum: Akdeniz'in eski adı) adını verdikleri bir protein kodlamaktadır [3,4].

*MEFV* geni üzerinde bugüne kadar 75'in üzerinde mutasyon tanımlanmıştır (Şekil 1). Bütün mutasyonlar ve polimorfizmlerin bulunduğu en son listeye INFEVERS veri tabanından ulaşılabilir; <http://fmf.igh.cnrs.fr/infervers/> [5]. Bu mutasyonlar genin 10. ekzonunda yoğunlaşmış olup, AAA hastalığında yaygın olarak görülen M694V, M680I ve V726A mutasyonları da yine bu bölgede bulunmaktadır. Grubumuzun 2001 yılında yapmış olduğu çalışmada, Türk AAA hastalarında *MEFV* geninde en sık görülen mutasyonların oranı; M694V için %51.55, M680I için %9.22, E148Q için %3.55, V726A için %2.88, M694I için %0.44 olarak belirlenmiş ve Türk popülasyonundaki AAA taşıyıcılığı %20 olarak rapor edilmiştir [6].

2000 yılında, 22 üniversite ve hastanenin 35 bölümünün katılımıyla Türk AAA Çalışma Grubu (FMF-TR) kurulmuştur. FMF-TR çalışma grubunda, 3047 hastanın verileri toplanmış ve 2838 hastanın verileri analiz edilmiştir [7]. FMF-TR çalışma grubu ve Türkiye'den yayınlanan diğer mutasyon analizi sonuçları birbirleriyle büyük oranda benzerlik göstermektedir. Türkiye'den yayınlanan mutasyon sonuçları ile, AAA hastalığının görüldüğü diğer toplumlardaki mutasyon dağılımı Tablo 1'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

AAA hastalığında taşıyıcı oranı; Türklerde %20, Ermenilerde %37, Aşkenazi Musevilerinde %21, Irak Musevilerinde %39'dur [6,8]. Taşıyıcılık oranı, hastalığın görüldüğü bütün toplumlarda yüksek olup, bu durum hastalığın evrimsel süreçte korunmuş olabileceğine işaret etmektedir. Mutant AAA allelerini taşıyan heterozigot bireylerin, artan inflamatuvar durum sayesinde, Akdeniz havzasında hastalığın ortaya çıktığı dönemde etkin olan bazı patojenlerden korunmada yaşam avan-



Şekil 1. MEFV geninin yapısı ve yaygın olarak görülen mutasyonların gen üzerindeki dağılımı [9].

Tablo 1. AAA hastalığının görüldüğü toplumlarda MEFV geni mutasyon oranları [6,7,10,11]

Mutasyon	Mutasyon oranları (%)					
	Türk [6]	Türk [11]	Türk [7]	Arap [10]	Ermeni [10]	Musevi [10]
M694V	51.55	43.5	51.4	20	37	65
M680I	9.22	12	14.4	7	21	1
E148Q	3.55	1.3	3.5	6	3	5
V726A	2.88	11.1	8.6	14	19	3
M694I	0.44	2.8	1.7	12	2	0
Diğer	1	4.6		3	2	6
Bilinmeyen	32.33	24.7	20.4	38	16	20

AAA: Ailevi akdeniz ateşi.

tajı sağlamış olabileceği düşünülmektedir [9,12]. Pürin primatlardaki evrimi için yapılan analizlerde bu düşünceyi destekler nitelikte sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu analizlerde, araştırılan 10 mutasyondan yedisinin, insanlarda mutant ancak primatlarda yabancı tip olduğu görülmüştür [13]. Bütün bu veriler ve değişimlerin evrimde majör ayırım noktalarında meydana gelmesi; pürinin fonksiyonel olarak çevresel faktörlere göre evrimleştiği, yeni selektif basıncın pürin dizisini değişime ittiği düşüncesini desteklemektedir [9].

AAA hastalığında fenotip ile genotip arasında kesin bir ilişki kurulamamıştır. Birçok grup, M694V mutasyonunun hastalığın daha ciddi formu ile ilişkili ve homozigot formda M694V mutasyonu taşıyan hastaların amiloid geliştirme risklerinin yüksek olduğunu ileri sürmektedir [11]. Buna karşılık, E148Q ve V726A mutasyonlarının düşük penetranslı ve amiloid geliştirme riskinin düşük olduğu düşünülmektedir. Fakat bazı araştırmacılar, V726A/M680I, M694I/M694I ve V726A/V726A gibi mutasyonlara sahip hastalarda da amiloid geliştiğini rapor etmişlerdir [14-16]. FMF-TR çalışma grubu; hastaları taşıdıkları mutasyonlara göre dört gruba (M694V için homozigot, M680I için homozigot, bileşik heterozigotlar ve M694V mutasyonu taşımayan

hastalar) ayırarak fenotip-genotip ilişkisini analiz etmiş, bunun sonucunda M694V için homozigot olan bireylerde, hastalığın daha erken yaşta ortaya çıktığı ve artrit ve artraljinin daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır (sırasıyla,  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ). Bu çalışmada ateş, karın ağrısı gibi diğer klinik bulgular ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark gösterilememiştir [7].

AAA hastalarının büyük bir çoğunluğunda ateş, karın ağrısı ve inflamasyon atakları gibi semptomlar gözlemlendikten sonra renal amiloid gelişimi görülmektedir. Bu tip hastalar fenotip I olarak gruplandırılmaktadır. Bazı vakalarda ise AAA semptomları ortaya çıkmadan ileri yaşlarda (13-15 yaş) renal amiloid geliştiği gözlenmektedir. Fenotip II olarak gruplandırılan bu hastalarda renal amiloidoz oluşana kadar hastalık asemptomatiktir [17]. Grubumuzun yapmış olduğu bir çalışmada; renal amiloidoz geliştiren ve fenotip II olduğu düşünülen 25 bireyin parafin doku bloklarından izole DNA'ları, MEFV geni mutasyonları açısından incelenerek bu vakalarda amiloid gelişiminin AAA'ya bağlı olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, hastalarda mutasyonların allel frekansı; M694V için %38, M680I için %8, V726A için %4 ve E148Q için %4 olarak saptanmıştır. MEFV geni mutasyonlarının gösterilmesiyle, AAA hastalığında klinik heterojeniteye sebep olan fe-

notip II bireylerinin varlığı kesin olarak ortaya konmuştur [18].

### MEFV GENİ ve AMİLOİD GELİŞİMİ

AAA hastalığının en önemli komplikasyonu bazı hastalarda klinik tabloya amiloidozun eklenmesidir [2]. AAA'da gelişen amiloidoz, AA tipi amiloid fibrillerinden oluşmakta ve SAA (serum amyloid-associated protein) olarak isimlendirilen, yüksek dansiteli bir lipoproteinin protein komponenti olan (apoprotein) büyük bir öncül proteinden gelişmektedir. Uzun süren doku tahribi ve iltihab, SAA seviyelerinin yükselmesine yol açmaktadır. Ancak miktarı artan SAA tek başına amiloid depolanması için yeterli değildir. SAA'nın normalde monositten gelişen matriks metalloproteinazlar 1, 2 ve 3 gibi enzimlerin etkisiyle çözülebilir son ürünlere parçalandığı düşünülmektedir [19]. Grubumuzun; amiloidoz geliştiren kişilerin, SAA'nın sınırlı proteolizine neden olan veya normalden fazla SAA salınımına sebep olan bir bozukluğa sahip olabileceği hipotezinden yola çıkarak bu kişilerde MEFV geni mutasyonlarını ve SAA polimorfizmlerini taramaya yönelik çalışmada, amiloid geliştiren AAA hastalarının %50.68'inde M694V mutasyonunun homozigot formda olduğu, amiloid geliştirmeyen AAA hastalarında bu oranın %36.22'ye düştüğü görülmüştür [20]. Aynı çalışmada, amiloid geliştiren AAA hastalarının %73.97'sinde SAA1 geninde  $\alpha/\alpha$  polimorfizmi bulunurken, amiloid geliştirmeyen AAA hastalarında bu oranın %21.00'a düşmesi; MEFV geninde M694V mutasyonunun homozigot formda oluşu ve SAA1 geninde  $\alpha/\alpha$  polimorfizminin bulunmasının AAA hastalarında risk faktörü olduğu ve amiloid gelişimine

yatkınlık sağladığı görüşünü ortaya çıkarmıştır [20]. Bu sonuçlar, MEFV geni mutasyonlarının artan atak sıklığı nedeniyle normalden fazla SAA salınımı ile ilişkili, SAA1  $\alpha/\alpha$  polimorfizminin ise SAA'nın sınırlı proteolizine sebep olabilecek bir faktör olması sebebiyle amiloid gelişimine yatkınlıkta rol oynayabileceklerini düşündürmüştür [20]. Bu çalışmaya ait SAA1 geni polimorfizm sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

### MEFV GENİ EKSPRESYONU

MEFV geni miyelopoiezis sırasında aktive olmakta ve olgun nötrofillerde, eozinofillerde ve bazofillerde ekspresyon görülmektedir [21]. MEFV geninin ayrıca dendritik hücrelerde ve deri ve sinovyal fibroblast primer hücre hatlarında da eksprese olduğu rapor edilmiştir. Sonuç olarak bu gen, AAA atakları sırasında inflamasyonun yaygın olarak görüldüğü bölgelere yakın dendritik hücreler gibi bazı yapısal hücrelerde eksprese olmaktadır [9].

Ekspresyonun görüldüğü birçok hücrede, bazal ekspresyon seviyesi düşük olup, tetiklenme sonucu seviye artışı gerçekleşmektedir. Ancak MEFV cevabı hücreden hücreye veya türler arasında farklılık gösterebilmektedir. İnsan monositlerinde, lipopolisakkarid (LPS), tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$  ve interferon (IFN)- $\gamma$  ile inkübasyon sonucu 24. saatte MEFV geni ekspresyonu artmakta, antiinflamatuvar sitokinler olan interlökin (IL)-4, IL-10 ve transforming growth faktör (TGF)- $\beta$  ile ekspresyon düşmektedir. Nötrofillerde, IFN- $\gamma$ , MEFV geni ekspresyonunu artırırken, LPS, TNF- $\alpha$ , IL-4 ve IL-10'un MEFV geninin ekspresyonu üzerinde hiçbir etkisi olmamaktadır [9].

**Tablo 2.** SAA1 geninde genotip ve allel dağılımı [20]

	Amiloid geliştiren AAA hastaları (%) n= 146 allel	Amiloid geliştirmeyen AAA hastaları (%) n= 200 allel	Sağlıklı kontrol bireyler (%) n= 200 allel
SAA1 geni genotipleri			
$\alpha/\alpha$	73.97	21.00	19.00
$\alpha/\beta$	21.91	42.00	43.00
$\alpha/\gamma$	1.36	3.00	4.00
$\beta/\beta$	1.36	22.00	25.00
$\beta/\gamma$	1.36	5.00	9.00
$\gamma/\gamma$	0.00	1.00	0.00
SAA1 geni allelleri			
$\alpha$	85.61	49.50	42.50
$\beta$	13.01	43.50	46.00
$\gamma$	1.40	5.00	6.50

AAA: Ailevi akdeniz ateşi.

## PYRIN PROTEİNİ

Pyrin, 781 aminoasitten oluşan, 86 kDa'luk arjinin ve lizin aminoasitlerince zengin, pozitif yüklü bir proteindir. Pyrin proteini, dört fonksiyonel domain (bölge) içermektedir [17] (Şekil 2).

- Amino (N) ucu PYRIN domaini (PAD, PyD veya DAPIN olarak da isimlendirilir),
- "B box zinc finger" domain (BB-ZF),
- "Coiled coil" domain (CC),
- Karboksi (C) ucu B30.2 domaini.

Pyrin proteini, nükleer lokalizasyon sinyali de içermektedir. Bu sinyal dizisinin varlığı proteinin çekirdekte lokalize olduğunu ve bir transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon gördüğü görüşünü dşndrmştir. Ancak yapılan çalışmalar, pyrinin in transfekto modellerde ve monositlerde sitoplazmada, sinovyal fibroblastlar ve nötrofillerde ise çekirdekte lokalize olduğunu göstermiştir [22]. Bu bulgular, pyrinin bulunduğu hreye göre farklı proteinlerle etkileşime girerek, farklı fonksiyonları üstlenebileceğini göstermektedir.

Pyrin proteininin AAA hastalığındaki fonksiyonu henüz iyi anlaşılamamış olmasına rağmen inflamasyonda direkt veya indirekt bir "down regulator" işlevi olduğu dşnlmektedir [17].

## PYRIN ile İLİŞKİLİ PROTEİNLER

Proteinin hücre düzeyindeki fonksiyonuna ışık tutmak amacıyla yapılan maya-2-hibrid sistemi çalışmalarında, pyrin proteini ile ilişkili bazı proteinler saptanmıştır. Bunlardan birincisi ASC (apoptosis-associated speck like protein with a CARD) [23], ikincisi PSTPIP1 [proline serine threonine phosphatase interacting protein 1/CD2BP1 (CD2 binding protein 1)] [24], üçüncüsü ise Siva proteinidir [Gumucio ve ark. yayımlanmamış data].

*"Apoptosis-associated speck like protein with a CARD (ASC)"*

ASC; ilk olarak apopitotik hücrelerde "speck" şeklinde ifade edilen agregatların oluşumuna sebep olan pro-

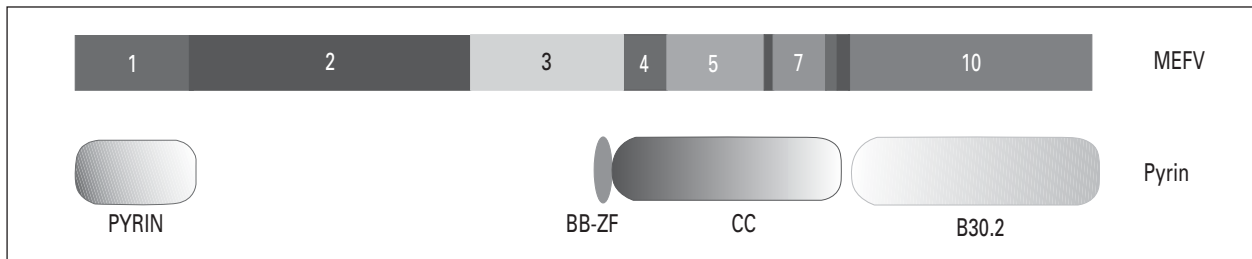
tein olarak tanımlanmıştır. "Speck" oluşturan hücrelerin %100' apopitotik programı tamamlamaktadır [23].

ASC yapısal olarak, 195 aminoasitten oluşan, amino ucunda pyrin domaini [PyD], karboksi ucunda "caspase recruitment domain (CARD)"i içeren bir proteindir. Hücre düzeyinde incelendiğinde, in vivoda ve in transfekto modellerde, ASC hem sitoplazma hem de çekirdekte eksprese olmaktadır. ASC'nin kendi üzerine asosiyasyonu ile oluşturduğu "speck" olarak ifade edilen büyük sitozolik agregatların içeriği moleküler olarak henüz aydınlatılabilmış değildir [9].

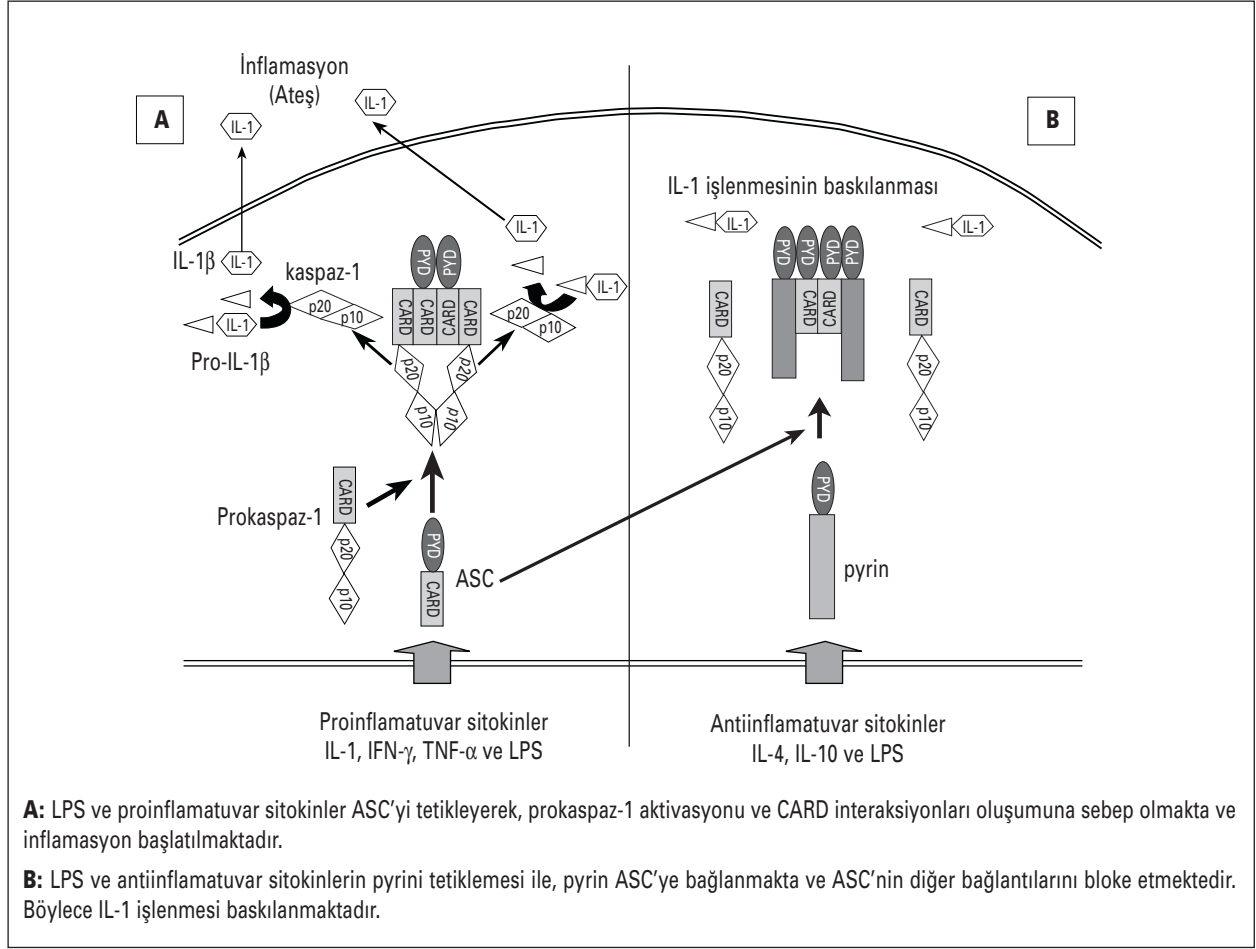
ASC'nin, PyD domaini sayesinde, diğer PyD içeren proteinlerle (rneğin; cryopyrin, PYPAF7, DEFCAP proteinleri gibi) protein-protein etkileşimine katıldığı gösterilmiştir. CARD domaini ise ASC'nin, fonksiyonel aktivitesinde önemli olduğu bilinen domainidir [21]. ASC;  önemli hüresel işlemde;

1. Apopitoz,
2. IL-1β'nın işlenmesi ve salgılanması ile ilişkili prokaspaz-1'in oluşturulması ve aktivasyonu,
3. İNFLAMATUVAR cevabın başlaması ve yayılmasında görevli bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB aktivasyonunda rol oynamaktadır [23].

ASC, prokaspaz-1'e (IL-1β "converting" enzim) bağlanarak onun agregasyonunu ve otoaktivasyonunu sağlamaktadır. Aktif kaspaz-1, pro-IL-1β'yı IL-1β'ya çevirmekte ve salgılanan IL-1, kendi reseptörüne bağlanarak inflamasyonu başlatmaktadır (Şekil 3). Pyrin proteininin fonksiyonel olduğu zaman, ASC'ye bağlanarak, ASC-prokaspaz-1 ilişkisini engellediği ve bu sayede IL-1 işlenmesini baskıladığı dşnlmektedir. Pyrin proteini ve ASC arasındaki bağlantının önemi in vivo çalışmalarla da gösterilmiştir. Fonksiyonel pyrin proteininin eksprese edilmediği, pyrin "knock out" farelerde yapılan çalışmalarda, LPS ve IL-4 ile pyrin ekspresyonu indüklenmiş ve bunun sonucunda farelerin peritoneal makrofajlarında artan IL-1β işlenmesi ve defektif apopitoz grlmştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, pyrin proteininin, ASC ile indüklenen IL-1β işlenmesini engelleyerek ve makrofaj apopitozuna izin



Şekil 2. MEFV geni ekzonları ve kodladıkları pyrin proteini domainleri [9].



Şekil 3. Pyrin proteini ile ASC arasındaki ilişkinin şematik olarak gösterimi [25].

vererek antiinflamatuvar bir molekül olarak görev yaptığı düşünülmektedir [25].

#### "Proline serine threonine phosphatase interacting protein 1 (PSTPIP1)"

PSTPIP1'i kodlayan gende meydana gelen mutasyonlar PAPA (pyogenic arthritis with pyoderma gangrenosum and acne) sendromuna sebep olmaktadır [26]. PAPA sendromu, otozomal dominant geçiş gösteren ve bazı klinik özellikleri açısından AAA'ya benzeyen bir otoinflamatuvar hastalıktır. PAPA sendromu olan kişilerde, AAA'da olduğu gibi, eklemlerde nötrofilden zengin efüzyonlar gelişmektedir [24].

PSTPIP1, pyrinin yoğun olarak eksprese olduğu monositler ve nötrofillerde eksprese olmaktadır. PSTPIP1 ayrıca akciğer, dalak, timus ve ince bağırsak gibi pyrinin eksprese olmadığı dokularda da eksprese olmaktadır. Bu protein 416 aminoasitten oluşur ve FCH (Fes/CIP4 homology domain), SH3 (Src homology 3 domain) olarak isimlendirilen iki önemli domain içerir [26].

PSTPIP1'in normalden fazla eksprese olduğu durumlarda, hücrelerde filopodya oluşumu indüklenmekte, bu da PSTPIP1'in hücre iskeleti organizasyonunda görevi olabileceğini düşündürmektedir. PSTPIP1 ve aktinin hücre içerisinde bazı bölgelerde birlikte olduğu gösterilmiş, ancak bu ilişkinin direkt veya aktin asosiyasyonlarından olabileceği konusunda kesin bulgular elde edilememiştir [9]. Ancak PSTPIP1'in SH3 bölgesinden, aktin bağımlı mekanizmanın iki proteini olan WASp ve c-abl'ye bağlandığının biliniyor oluşu, aktin-PSTPIP1 ilişkisinin bu proteinler üzerinden olabileceğini işaret etmektedir [9].

Son çalışmalarda; PAPA sendromuna sebep olan mutasyonların, uygun inflamatuvar cevap için gerekli olan fizyolojik sinyal iletimini bozduğu hipotezi öne sürülmektedir. Bu nedenle PAPA sendromu da otoinflamatuvar bir hastalık olarak görülmektedir. PAPA sendromunda majör inflamasyon deri ve eklemlerde görülürken, AAA hastalığında inflamasyon karın, göğüs, eklem ve deride görülmektedir. Bu ortak fenotip, PSTPIP1 ve pyrinin, önemli bir inflamatuvar yolda birlikte çalış-

şabileceđini ve PSTPIP1'e bađlı biyokimyasal yolların AAA ile ortak olabileceđini dűşündürmektedir [9].

PSTPIP1, PEST fosfatazlar [prolin (P), glutamik asit (E), serin (S) ve treonin (T)'den zengin protein tirozin fosfataz] (örnek ptp-pest) ile substratları arasında önemli bir adaptör proteindir. PSTPIP1 ile pyrin proteini arasındaki bağlantı arttığında PEST fosfataz bağlantısının azaldığı düşünölmektedir. Dolayısıyla, hastalık fenotipinin bir kısmı, PEST fosfataz hedeflerinin fosforilasyon durumu ile ilişkilendirilmektedir [Gumucio ve ark. yayınlanmamış data].

Pyrin-PSTPIP1 interaksyonu; hücre iskeleti, inflamasyon ve hastalıklar arasındaki bağlantıya işaret etmektedir. Grubumuzun Gumucio ile ortaklaşa yürüttüğü çalışmalarında, bu iki protein arasındaki ilişki immünfloresan boyama yöntemi ile konfirme edilmiştir. Bu interaksiyon açısından önemli olduğu düşünölen pyrin domainleri üzerinde in vitro mutagenез yöntemi kullanılarak D330A, R408Q, E474K, H478K, F479L ve Y688X mutasyonları yaratılmış, ancak bu mutasyonların Pyrin-PSTPIP1 ilişkisi açısından önemli olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu ilişkinin hücre düzeyindeki fonksiyonel öneminin anlaşılabilmesi amacıyla aktin polimerizasyonu açısından önemli olduğu bilinen fagositoz deneyi yapılmış ve bu deney sonucunda pyrin ve PSTPIP1'in birlikte overeksprese edildiği hücrelerde fagositoz aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (yayınlanmamış data).

### Siva

Siva ilk olarak maya-2-hibrid sistemi ile CD27 proteinine bağlanan protein olarak tanımlanmıştır [27]. Daha sonra Gumucio ve arkadaşları pyrin ile ilişkili proteinlerin saptanmasına yönelik olarak, nötrofil cDNA kütüphanesi kullanılarak yaptıkları maya-2-hibrid sistemi deneyleri sonucunda Sivayı pyrine bağlanan üçüncü protein olarak tanımlamışlardır (yayınlanmamış data).

Siva geni 6490 nükleotid içermekte ve iki farklı transkripsiyon ürününü kodlamaktadır. Siva 1 proteini, 175 aminoasit; alternatif "splicing" sonucu, "death domain homology region" bölgesinin büyük bir kısmının eksik olduğu Siva 2 proteini 110 aminoasit uzunluğundadır [28]. Siva primer olarak lenfositlerde ve timus, prostat, testis, yumurtalıklar, ince bağırsakta [27] ayrıca, monosit ve nötrofillerde (yayınlanmamış data) eksprese olmaktadır.

Siva 1 ve Siva 2 proteinleri ile ilgili bugüne kadar yapılan çalışmalarda, her iki proteinin de proapoptotik özellikleri ortaya konmuştur [28]. Siva 2 proteini bazı çalışmalarda, DDHR (Death Domain Homology Region) bölgesinin büyük bir kısmını bulundurmaması ne-

deniyle, daha az proapoptotik veya apoptotik olmayan bir protein olarak tanımlanmışsa da, bu konu halen çelişkilidir [29].

Grubumuzun Gumucio ile ortaklaşa yürüttüğü çalışmada; öncelikle Siva 1 ve Siva 2'nin, pyrinin yoğun olarak eksprese olduğu hücrelerde eksprese olduğu gösterilmiş, bu da proteinlerin birbirlerine bağlanmaları ve bu hücrelerde birlikte görev almalarını destekleyici bir sonuç olmuştur. Protein-protein etkileşimlerinin gösterilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan immünpresipitasyon deneyleri ile bu ilişki konfirme edilerek, Siva geni üzerinde birinci ekzonun ve MEFV geninde 10. ekzonun kodladığı bölgelerin bu interaksiyon açısından önemli olduğu gösterilmiştir. Pyrin ile ilişkili diğer proteinler de düşünöldüğünde, MEFV geninin 10. ekzonu ilk defa bu çalışma ile protein-protein etkileşimleri açısından önemli bir bölge olarak tanımlanmıştır. Bu sonuç; pyrin ve sivanın AAA patogenezinde önemli bir rolü olabileceğine işaret etmektedir. Bu çalışmada, iki proteinin birlikte hücre içi lokalizasyonları ayrıca immünfloresan boyama yöntemiyle gösterilmiş, interaksiyonun özellikle hücre membranı uzantılarının olduğu bölgelerde ve hücre içi stres fibrilleri üzerinde arttığı görölmüştür. Sivanın proapoptotik bir protein olarak tanımlanması ve pyrinin yine apoptozda rol alan ASC ile interaksiyona giriyor olması nedeniyle, Pyrin-Siva ilişkisinin, hücrede apoptoz mekanizması üzerinde bir etkisi olduğu düşünölmektedir. Grubumuz, bu ilişkinin hücrede apoptoz mekanizmaları üzerindeki öneminin anlaşılabilmesi için akım sitometri yöntemi kullanılarak yapılan apoptoz çalışmaları halen devam etmektedir.

### SONUÇLAR ve TARTIŞMA

AAA hastalığı, ölkemizde sık görölen otoinflamatuvar bir hastalık olup, patogenezi halen tam olarak bilinmemektedir. AAA'nın gen ürünü olan pyrin proteininin inflamasyonda "down regulator" işlevi olduğu düşünölmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, pyrin proteininin, otoinflamatuvar hastalıklardan sorumlu olduğu bilinen diğer bazı proteinler ile interaksiyona girdiği gösterilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarla; Pyrin, ASC, PSTPIP1 ve Siva'nın, hücre iskeleti, inflamasyon ve apoptozun içinde yer aldığı bir sinyal ağı içerisinde önemli rollere sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Bu sinyal ağında meydana gelen bozukluklar ile inflamatuvar sendromlar ortaya çıkmaktadır.

Pyrin ve pyrin ile ilişkili proteinler üzerine yapılacak çalışmalar sayesinde AAA hastalığının patogenezi daha iyi anlaşılacaktır, ancak bu tür çalışmaların en önemli katkısı otoinflamatuvar hastalıkların veya inflamasyon mekanizmasının devreye girdiği tüm patolojik durumlara ışık tutmak olacaktır.

Otoinflamatuvar hastalıkların birçoğu nadir olarak görülse de, patogenezlerinin daha iyi anlaşılması sık görülen hastalıklar açısından önemli olan, inflamasyon ve doğal bağışıklığın temel mekanizmalarının anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Bu tür hastalıklara sebep olan faktörlerin araştırılması ile yeni etkin koruyucu ve tedavi protokolleri geliştirilebilecektir.

### Kaynaklar

1. Livhen A, Lengevitz P, Zewer D, et al. Criteria for the diagnosis of FMF. *Arthritis Rheumatol* 1997; 40:1879-85.
2. Gilles G. The relation between familial Mediterranean fever and amyloidosis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12:61-4.
3. International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the Roret gene family cause familial Mediterranean fever. *Cell* 1997; 90:797-807.
4. French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nature Genetics* 1997; 17:25-31.
5. Infevers veri tabanı, <http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>
6. Yılmaz E, Özen S, Balci B, et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* 2001; 9:553-5.
7. Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey results of a nationwide multicenter study. *Medicine* 2005; 84:1-11.
8. Staoffman N, Magal N. Higher than expected carrier rates for FMF in various Jewish ethnic groups. *Eur J Hum Genet* 2000; 8:307-10.
9. Schaner PE, Gumucio DL. Familial Mediterranean fever in the post-genomic era: how an ancient disease is providing new insights into inflammatory pathways. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy* 2005; 4:45-52.
10. Mansour I, Delague V, et al. Familial Mediterranean fever in Lebanon: mutation spectrum, evidence for cases in Maronites, Greek orthodoxes, Greek Catholics, syriacs and Chites and for an association between amyloidosis and M694V and M694I mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 51-5.
11. Akar N, Misiroğlu M, Yalcinkaya F, et al. MEFV mutations in Turkish patients suffering from familial Mediterranean fever. *Human Mutation* 1999; 15:118-9.
12. Ozen S, Balci B, Özkara S, et al. Is there a heterozygote advantage for familial Mediterranean fever carriers against Tuberculosis infections: speculations remain. *Clin Exp Rheumatol* 2002; (Suppl 26):57-8.
13. Schaner P, Richards N, Wadhwa A, et al. Episodic evolution of pyrin in primates: human mutations recapitulate ancestral amino acid states. *Nature Genetics* 2001; 27:318.
14. Akar N, Akar E, Yalçinkaya F. E148Q of the MEFV gene causes amyloidosis. *Pediatrics* 2001; 108:215.
15. Sohat M, Magal N, Shohat T, et al. Phenotype genotype correlation in FMF: evidence for an association between M694V and amyloidosis. *Eur J Hum Genet* 1999; 7:287-92.
16. Ben-Chetrit E, Backenroth R. Amyloidosis induced, end stage renal disease in patients with familial Mediterranean fever is highly associated with point mutations in the MEFV gene. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:146-9.
17. Jonathan S, Kastner D. FMF at the millenium clinical spectrum, ancient mutations and survey of 100 American referrals to the NIH. *Medicine* 1998; 77:268-97.
18. Balci B, Tinaztepe K, Yılmaz E, et al. MEFV gene mutations in FMF phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood: a retrospective clinicopathologic and molecular study. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2002; 17:1921-23.
19. Stix B, Kahne T, Stetten K, et al. Proteolysis of AA amyloid fibril proteins by matrix metalloproteinases 1, 2 and 3. *Am J Pathol* 2001; 159:561-70.
20. Yılmaz E, Balci B, Kutlay S, et al. Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2003; 45:198-202.
21. Centola M, Wood G, Frucht D M, et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood* 2000; 95:3223-31.
22. Diaz A, Hu C, Kastner DL, et al. Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: a prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3679-89.
23. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, et al. Fire and ice: the role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20:45-51.
24. Shoham NG, Centola M, Mansfield E, et al. Pyrin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *PNAS* 2003; 100:13501-6.
25. Chae JJ, Komarrow HD, Cheng J, et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Molecular Cell* 2004; 11:591-604.
26. OMIM veri tabanı, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
27. Prasad KVS, Zhaohui AO, Yoosik Y, et al. CD27, a member of the tumor necrosis factor receptor family, induces apoptosis and binds to Siva, a proapoptotic protein. *PNAS* 1997; 94.
28. Benedicte PY, Christian S, Patrick A, et al. Siva-1 and an alternative splice form lacking the death domain, Siva-2 similarly induce apoptosis in T lymphocytes via a caspase dependent mitochondrial pathway. *The Journal of Immunology* 2004; 172:4008-17.
29. Chu F, Borthakur A, Sun X, et al. The Siva-1 putative amphipathic helical region (SAH) is sufficient to bind to BCL-XL and sensitize cells to UV radiation induced apoptosis. *Apoptosis* 2004; 9:83-95.