

Ankilozan Spondilit Hastalarında MEFV (Mediterranean Fever) Gen Mutasyonları Sıklığının ve Hastalık Şiddeti Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Frequency and Disease Severity of Familial Mediterranean Fever (FMF) Related MEFV Gene Mutations Among Ankylosing Spondylitis Patients

Aslı TUFAN,^a
Sibel Zehra AYDIN,^b
Fatih EREN,^c
Pamir ATAGÜNDÜZ^d

^aGeriatri BD,
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi,
^bRomatoloji Kliniği,
İstanbul Medeniyet Üniversitesi
Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
^cTıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
Marmara Üniversitesi
Gastroenteroloji Enstitüsü,
^dRomatoloji BD,
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 12.08.2013
Kabul Tarihi/Accepted: 14.01.2014

Yazışma Adresi/Correspondence:
Aslı TUFAN
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Geriatri BD, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
aslitufan@yahoo.com

ÖZET Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ile ilişkili MEFV gen mutasyonlarının Behçet hastalığı, romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi diğer sistemik inflamatuvar hastalıklarda da sıklığının arttığı ve bazı klinik bulgular ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Literatürde MEFV mutasyonlarının ankilozan spondilitte (AS) de arttığına dair gözlemler bulunmaktadır. Bu çalışmada kendi kohortumuzdaki AS hastalarında MEFV gen mutasyon sıklığının; hastalık şiddeti ve radyolojik hasar ile ilişkisi değerlendirildi. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya yeniden düzenlenen Tel Hashomer kriterlerine göre FMF kliniği olmayan ve yeniden düzenlenen New York kriterlerine göre AS tanı 97 hasta (erkek/kadın=49/48) alındı. AS hastalarının demografik özellikleri, klinik aktiviteleri Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi (BASDAI), Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonellik İndeksi (BASFI), akut faz yanıtı ve radyolojik hasar dereceleri modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Omur Skoru (mSASSS) ve Bath Ankilozan Spondilit Radyoloji İndeksi (BASRI) kullanılarak belirlendi. DNA izolasyonu takiben MEFV geninin 10. ekzonunda bulunan üç ayrı mutasyon (M694V, M680I ve V726A) Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi; 2. ekzonda bulunan E148Q mutasyonunun sıklığı ve gen frekansı Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm yöntemi ile araştırıldı. Sonuçlar inflamatuvar hastalığı bulunmayan (diabetes mellitus, sistemik hipertansiyon, karaciğer yetmezliği gibi) 186 kişiden oluşan sağlıklı kontrol (SK) grubuyla karşılaştırıldı. **Bulgular:** Ortalama hastalık süresi AS hasta grubunda 12.30±7.90 yıl olarak saptandı. Hastaların %71.60'sında HLA-B27 pozitifliği. Yüzde 32 hastada ise üveit hikayesi mevcuttu. AS grubunda 5 (%5.21) hastada heterozigot M694V mutasyonu, 2 (%2.51) hastada heterozigot V726A mutasyonu, 2 (%2.51) hastada heterozigot M680I mutasyonu ve 10 (%10.31) hastada heterozigot E148Q mutasyonu saptandı. Bir hastada iki mutasyon birliktedi [E148Q/M680I birleşik (compound) heterozigot], SK grubunda 2 kişide (%1.07) M680I heterozigot, 9 (%4.81)kişide M694V heterozigot, 6 (%3.21) kişide V726A heterozigot ve 20 (%10.71) kişide E148Q heterozigot mutasyon belirlendi. Çalışılan MEFV mutasyonları AS grubunda 19 hastada saptanırken (19/97, %19.51), SK grubunda 37 kişide (37/186, %19.91) saptandı. Her iki grup arasında anlamlı fark gözlenmedi (p=0.881). Her iki grupta da homozigot mutasyona rastlanmadı. Sık olan E148Q dışlandığında yine gruplar arası farklılık yoktu (AS: %8.20; SK: %9.10; p=1). Mutasyonu pozitif saptanan ve saptanmayan grupların üveit sıklığı, HLA B27 pozitifliği, BASDAI ve BASFI skorları benzer bulundu. Mutasyon varlığının radyolojik hasarla ilişkisi olmadığı gözlemlendi [mutasyon (+) ve (-) olgularda: mSASSS için 23.50 (2-72) ve 14 (1-72) (p=0.477). BASRI için 4.50 (2-12) ve 5 (2-12) (p=0.921)]. **Sonuç:** Çalışmamızda AS hastalarında MEFV mutasyonu sıklığında artış saptanmamıştır. Behçet hastalığı ve romatoid artrit gibi inflamatuvar ve otoinflamatuvar hastalıklarda daha önce MEFV mutasyonlarının varlığı hastalık şiddeti ile ilişkili olarak bildirilmesine rağmen, çalışma grubumuzda AS hastalarında MEFV mutasyon varlığı ile inflamatuvar bir hastalık olan AS'nin hastalık şiddeti arasında bir ilişki belirlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Spondilit, ankilozan; ailesel akdeniz ateşi

ABSTRACT Objective: Increased frequency of Familial Mediterranean Fever (FMF)-related MEFV gene mutations and an association with a more severe disease was reported for Behçet's Disease, rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease. In this study, the MEFV gene mutation frequency and its effect on disease activity and radiographic severity was investigated in ankylosing spondylitis (AS). **Material and Methods:** Ninety seven patients (male/female=49/48) diagnosed with AS according to modified New York criteria, and screened for FMF-related symptoms using the revised Tel Hashomer criteria were included in the study. Disease activity was assessed using the Bath Ankylosing Spondylitis Activity index (BASDAI), and functional loss and radiographic damage were assessed using Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI) and the modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS), respectively. DNA samples were obtained from the peripheral blood. MEFV mutations of exon 10 (M694V, M680I and V726A) were identified by the Amplification Refractory Mutation System method, and the E148Q mutation in exon 2 was detected by the Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism method. Results from the study patients were compared with a control group (CG) of 186 patients who had non-inflammatory diseases (i.e. diabetes mellitus, primary hypertension or hyperlipidemia). **Results:** The mean disease duration of study patients was 12.30±7.90 years, 71.6% of them were HLA-B27 positive, and 32% of the AS patients had a history of uveitis. In AS group, M694V heterozygote mutation was found in 5 (5.21%) patients. V726A heterozygote mutation was found in 2 (2.51%) patients. M680I heterozygote mutation was found in 2 (2.51%) patients. E148Q heterozygote mutation was found in 10 (10.31%) patients. There was only one single compound heterozygote patient in the AS group carrying the E148Q/M680I mutation. A total of 19 mutations were present in the study group (19/97, 19.51%). In the CG, a total of 37 MEFV mutations were detected (19.91%). Nine heterozygote M694V mutations (4.81%), 6 heterozygote V726A mutations (3.21%), 2 heterozygote M680I mutations (1.07%), and 20 heterozygote E148Q mutations (10.71%) were present in the CG. In whole group analysis, when compared to the CG, no statistically significant increase in MEFV mutation was detected in AS patients (p=0.881). In both groups, homozygote mutations were not found. Although E148Q mutations were excluded from both groups (AS: 8.20% vs CG: 9%; p=1) the groups were not different from each other. Disease activity and functional status, HLA-B27 status and the prevalence of uveitis did not differ between non-carriers and MEFV mutation carriers. The presence of MEFV mutations did not affect radiographic severity assessed by mSASSS and BASRI (Carriers vs. non-carriers: mSASSS 23.50 (2-72) vs 14 (1-72); p=0.477. BASRI 4.50 (2-12) vs 5 (2-12); p=0.921). **Conclusion:** In our study, the frequency of FMF-related MEFV gene mutations was not higher among AS patients. Although some studies reported an association between MEFV gene mutations and inflammatory and auto-inflammatory diseases like Behçet's disease and rheumatoid arthritis, our results suggested that the rate of carriers for MEFV mutations was not higher in AS, and the disease severity was not affected by their presence.

Key Words: Spondylitis, ankylosing; familial mediterranean fever

doi: 10.5336/medsci.2013-34490

Copyright © 2014 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2014;34(2):223-30

Ankilozan spondilit (AS), spondiloartrit grubu hastalıklar içerisinde yer alır ve bunlar arasında en sık görülenidir. Tipik olarak spinal kolon ve sakroiliak eklemleri, entez bölgelerini ve bazı hastalarda da periferik eklemleri tutan, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. HLA-B27 ve AS arasındaki kuvvetli genetik ilişki iyi bilinmektedir.¹ On altıncı kromozomun kısa kolu üzerinde bulunan MEFV (MEditerranean FeVer) geninin bir otoinflamatuvar periodik ateş sendromu olan Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ile ilişkisi daha önce bildirilmiştir.^{2,3} Literatürde, MEFV geninin kodladığı pirin proteininin, inflamasyonun intrasellüler kontrolünde rol aldığını destekleyen veriler yer almaktadır.⁴ Bu gen üzerinde tanımlanan nokta mutasyonları, pirin proteininin normal fonksiyonunu bozarak, olasılıkla daha şiddetli bir inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Yakın zamanda, romatoid artrit (RA) gibi, FMF dışı bir diğer kronik inflamatuvar hastalıkta da, FMF ile ilişkili MEFV mutasyonlarının varlığının daha ağır ve eroziv bir RA kliniği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁵ Benzer şekilde, MEFV geni mutasyonu taşıyan juvenil idiyopatik artrit (JIA) hastalarında da, bu geni taşımayanlara oranla daha ağır bir klinik seyir olduğu bildirilmiştir.⁶ Kliniğimizden bildirilen bir genetik çalışmada da, Behçet hastalığında (BH) MEFV mutasyonu taşıyıcılığının hastalık şiddet skorunu yükselttiği, ve kadın Behçet hastalarında vasküler tutulum ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.⁷ BH'de MEFV geni mutasyonları sıklığının normal popülasyondan yüksek olduğu, benzer bir diğer çalışma ile de desteklenmiştir.⁸ İsrail'de 2003 yılında yapılan bir araştırma sonucunda MEFV geni mutasyonu, özellikle M694V taşıyan multiple skleroz (MS) hastalarında daha şiddetli bir hastalık seyri bulunduğu, ve morbiditenin daha hızlı geliştiği bildirilmiştir.⁹ Benzer şekilde yine İsrail'de yapılan bir çalışmada, E148Q mutasyonunu bir kopya olarak taşıyan Crohn hastalarında ekstra-intestinal belirtilerin daha sık bulunduğu ve daha şiddetli bir hastalık kliniği olduğu bildirilmiştir.¹⁰

Bu çalışmanın amacı, AS hastalarında MEFV geni mutasyon sıklığının belirlenmesi ve hastalık şiddeti ile MEFV mutasyonlarının ilişkisinin araştırılmasıdır. Bu şekilde hastalığın etiyopatogenezi ve prognozuna ışık tutulmaya çalışılacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Romatoloji Polikliniği'nde izlenen ve yeniden düzenlenen New York kriterlerine göre AS tanısı olan 97 hasta alındı. Sağlıklı kontrol (SK) grubu ise, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Polikliniği'nde takip edilen ve inflamatuvar hastalığı bulunmayan (diabetes mellitus, sistemik hipertansiyon, karaciğer yetmezliği gibi) yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 186 kişiden oluşturuldu.

Dâhil edilme kriterleri:

AS Grubu: Yeniden düzenlenen New York kriterlerine göre AS tanısı almış olmak:¹¹

1. En az 3 aydır süren, egzersiz ile azalıp, istirahatle yanıt vermeyen bel ağrısı,
2. Lomber vertebraların sagittal ve frontal düzlemde hareketlerinin kısıtlanması,
3. Göğüs duvar ekspansiyonunda azalma,
4. Bilateral sakroileit-grade 2-4,
5. Unilateral sakroileit-grade 3-4.

Kesin AS tanısı, 5. kriter veya 4. kriter (+) ilk 3 kriterden birisi ile konulur.

Çalışmadan çıkarılma kriterleri:

1. 18 yaş altı hastalar,
2. Araştırma onayı vermeyenler.

Çalışmaya alınan AS tanısı olan hastalar ve kontrol grubundaki kişiler FMF tanısı için yeniden düzenlenen Tel-Hashomer Tanı kriterlerine göre değerlendirildi ve kriterleri dolduran hastalar çalışmaya alınmadı.¹²

Çalışma başlangıcında hastalardan gönüllü onam formu alındıktan sonra DNA izolasyonu, AS hastalarının ve kontrollerin ön kolundan EDTA'lı tüplere alınan 10 mL venöz kandan, aynı gün, GENERATION® Capture Column Kit (DNA Purification Kit) GC-0300 ile yapıldı. İzolasyon sonrasında, genetik materyal çalışılana kadar 20°C'de saklandı. DNA'larda homojen bir dağılım sağlandıktan sonra, örnekler 1:50 oranında sulandırıldı. Optik yoğunlukları 260 nm'de spektrofotometri ile ölçüldü.

tometrede ölçülerek, stoklardaki DNA miktarları tayin edildi. Elde edilen değerlere göre tüm DNA örneklerinin son konsantrasyonu 30 ng/µL olacak şekilde DNA sulandırılmaları hazırlandı. Böylece polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılacak tüm DNA'ların konsantrasyonları eşitlenmiş ve stoklar korunmuş oldu. DNA'ların protein oranını belirlemek için de 280 nm'de ölçüm yapıldı. 260/280 nm oranının 1,5 ve üzeri olmasına dikkat edildi.

DNA izolasyonunu takiben, MEFV geninin 10. ekzonunda bulunan üç ayrı mutasyon (M694V, M680I ve V726A) Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS); 2. Exon'da bulunan E148Q mutasyonunun sıklığı ve gen frekansı Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm (PZR-RFLP) yöntemi ile araştırıldı.

Sonuçlar, inflamatuvar hastalığı bulunmayan (diabetes mellitus, sistemik hipertansiyon, karaciğer yetmezliği gibi) 186 kişiden oluşan SK grubuyla karşılaştırıldı.

AS hastalarının demografik özellikleri, klinik aktiviteleri Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi (Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index-BASDAI) (Tablo 1), Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonellik İndeksi (Bath Ankylosing

TABLO 1: BASDAI skoru (son 1 hafta içinde).

1. Hastalığınızla ilgili yorgunluk ya da bitkinlik şikâyetlerinizin derecesi nedir? YOK 0-----1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10 ŞİDDETLİ
2. Hastalığınızla ilgili boyun, sırt ve kalça ağrılarının derecesi nedir? YOK 0-----1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10 ŞİDDETLİ
3. Boyun, sırt ve kalça dışındaki eklemlerinizdeki ağrı ve şişlik şikâyetlerinizin derecesi nedir? YOK 0-----1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10 ŞİDDETLİ
4. Dokunma ve basınca hassas olan herhangi bir bölgenizde hissettiğiniz rahatsızlığın derecesi nedir? YOK 0-----1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10 ŞİDDETLİ
5. Uykudan uyanma sonrasında sabah tutukluğunuzun derecesi nedir? YOK 0-----1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10 ŞİDDETLİ
6. Uykudan uyanma sonrasında sabah tutukluğunuzun süresi nedir? 0-----1/2-----1-----1 1/2-----2 saat

TABLO 2: Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonellik İndeksi (BASFI).

Aşağıdaki aktiviteleri ne ölçüde yapabildiğinizi göstermek için lütfen aşağıdaki çizgiler üzerine işaret koyunuz. Örnek: Kolay _____x_____ İmkânsız
Geçen Hafta İçinde
1. Çoraplarını (veya külotlu çoraplarını) bir başkasının veya aracın yardımı olmadan giyebiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız
2. Yardımcı araç olmadan yerde duran bir kalemi almak için, belinden öne doğru eğilebilir miydin? Kolay _____ İmkânsız
3. Yüksek bir rafa bir başkasından yardım almadan ya da yardımcı araç olmadan uzanabilir miydin? Kolay _____ İmkânsız
4. İskeleden ellerini kullanmadan veya bir yardım almadan kalkabilir miydin? Kolay _____ İmkânsız
5. Yerde sırtüstü yatarken yardım almadan kalkabilir miydin? Kolay _____ İmkânsız
6. Rahatsız olmadan ayakta 10 dakika desteksiz durabiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız
7. Her basamağa bir adım atarak, merdiven tirabzanını veya baston kullanmadan 12-15 basamak çıkabiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız
8. Vücudunu çevirmeden omzunun üzerinden bakabiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız
9. Fizik tedavi egzersizleri, bahçe işleri veya spor yapabiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız
10. Evde veya işyerinde, bir gün içindeki tüm aktivitelerini yapabiliyor muydun? Kolay _____ İmkânsız

Spondylitis Funtional Index-BASFI) (Tablo 2), akut faz yanıtları ve radyolojik hasar dereceleri modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Omur Skoru (Modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score-mSASSS) ve Bath Ankilozan Spondilit Radyoloji İndeksi (Bath Ankylosing Spondylitis Ra-

TABLO 3: Bath Radyoloji İndeksi (BASRI).

TABLO 3: Bath Radyoloji İndeksi (BASRI).	
BASRI-s: (Toplam skor: 2-12)	
1- SİE'ler (2-4) için derecelendirme:	
0. Normal	
1. Şüpheli değişiklikler	
2. Skleroz, bir miktar erozyon, eklem aralığında genişleme	
3. Belirgin erozyonlar, skleroz, eklem aralığında kayıp	
4. Tam ankiloz	
2- Servikal (0-4) ve	
3- Lomber (0-4) grafiler için derecelendirme:	
0. Normal	
1. Şüpheli	
2. Hafif (≤ 2 vertebrada erozyonlar, kareleşme, sindezmozit var ya da yok)	
3. Orta (≥ 3 vertebrada sindezmozit, 2 vertebrayı içeren füzyon var ya da yok)	
4. Şiddetli (≥ 3 vertebrada füzyon)	
4- BASRI-h: (Toplam skor: 0-4)	
4- Kalça eklemleri	
0. Normal	
1. Şüpheli	
2. Hafif	
3. Orta	
4. Şiddetli	
Toplam skor (BASRI-t)=4 skor toplamı (2-16)	

diology Index-BASRI) (Tablo 3) kullanılarak belirlendi.¹³⁻¹⁵

Çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada değerlendirilen değişkenlerden normal dağılıma uyumlu olduğu tespit edilenler "ortalama± standart sapma" ile, normal dağılmayanlar ise "median, (minimum-maksimum)" şeklinde ifade edilmiştir. Mutasyonu olan ve olmayan grupların ikili grup karşılaştırmalarında, mutasyonu olmayan hasta sayısının düşük olması göz önünde bulundurularak Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki kategorik verilerin karşılaştırması "Fisher'in kesin Ki-kare testi" ile yapılmıştır. p değerinin 0,05'den küçük olması ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz için SPSS 16.0 programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen 97 hastanın 48 (%49,50)'i kadın, 49 (%50,50)'ü erkekti Hastaların ortalama yaşı $40,50\pm 11,50$ yıl olarak saptandı. Hastalık süreleri $12,30\pm 7,90$ yıldır.

Hastaların %71,60'ı HLA-B27 pozitif bulundu. Hastaların %52,60'ında periferik artrit ve %39,80'inde entezit mevcuttu. Hastaların %32,60'si en az bir kez üveit atağı geçirmişti. Akut faz yanıtları değerlendirildiğinde eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) 22 (2-80) mm/s; C-reaktif protein (CRP) 5,20 (1-26) mm/L bulundu. Pozitif aile hikayesi toplam 5 (%5,20) hastada mevcuttu.

Klinik ve fonksiyonel aktiviteleri açısından BASDAI değerleri 3 (0-8), BASFI 2,05 (0-8,50) olarak belirlendi. Radyolojik hasar açısından değerlendirildiğinde MSASSS 15,50 (1-72), BASRI 5 (2-12) idi.

Tedavide hastaların %21'i anti-TNF ajanlar kullanmaktaydı (Tablo 4).

Çalışılan MEFV mutasyonları AS grubunda 19 (%19,51) hastada gözlenirken, SK grubunda 37

TABLO 4: Hastaların demografik özellikleri.

Özellikler	(n=97)
Cinsiyet (kadın %)	48 (%49,50)
Yaş	40,50±11,50
HLA B27 + (%)	63 (%71,60)
Üveit (%)	31 (%32,60)
Periferik artrit (%)	50 (%52,60)
Aile hikayesi	5 (%5,20)
Entezit (%)	37 (%39,80)
Anti-TNF kullanımı (%)	21 (%21,90)
Hastalık süresi (yıl)	12,37 ± 7,90
BASDAI	3 (0-8)
BASFI	2,05 (0-8,50)
mSASSS	15,50 (1-72)
BASRI	5 (2-12)
ESH (mm/saat)	22 (2-80)
CRP (mm/L)	5,20 (1-26)

BASDAI: Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi; BASFI: Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonellik İndeksi; BASRI: Bath Ankilozan Spondilit Radyolojik İndeksi; mSASSS: Modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Omur Skor., anti-TNF: anti-tumor necrosis factor; CRP: C-reaktif protein; ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı.

BASDAI, BASFI, BASRI, MSASSS, ESR ve CRP değerleri median (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

(%19,91)kişide saptandı, ve anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,881$).

AS hasta grubunda 5 (%5,20) hastada heterozigot M694V mutasyonu, 2 (%2,51) hastada heterozigot V726A mutasyonu, 2(%2,51) hastada heterozigot M680I mutasyonu ve 10 (%10,31) hastada heterozigot E148Q mutasyonu saptandı. Bir hastada iki mutasyon birlikteydi [E148Q/M680I birleşik (compound) heterozigot].

SK grubunda 2(%1,07) kişide M680I heterozigot, 9 (%4,81) kişide M694V heterozigot, 6 (%3,21) kişide V726A heterozigot ve 20 (%10,71) kişide E148Q heterozigot mutasyon belirlendi.

Her iki grupta da homozigot mutasyona rastlanmadı. AS ve SK gruplarının heterozigot E148Q mutasyonu, M694V mutasyonu, M680I mutasyonu ve V726A mutasyonları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (p değerleri sırasıyla $p=1$, $p=1$, $p=0,611$, $p=0,721$). E148Q mutasyonun daha çok bir polimorfizm gibi de düşünülmesi ve ılımlı fenotiplerle birlikte bulunması sebebiyle, bu gen mutasyonu dışlandı.¹⁶ Dışlama sonrası karşılaştırma yapıldığında gruplar arası farklılık yoktu (AS: %8,20, SK: %9,10; $p=1$) (Tablo 5).

AS grubunu kendi içinde mutasyon (+) ve mutasyon (-) olarak ayırıp, mutasyon varlığının demografik, klinik ve radyolojik olarak etkisini araştırdık (Tablo 6).

Mutasyon (+) ve (-) hastaların yaş dağılımları benzerdi, ve sırasıyla 44 (34-53) ve 43 (22-68) yıl

idi ($p=0,282$). Mutasyon (+) ve (-) hastalık süreleri 19 (3-24) yıl ve 13(2-30) yıl olarak bulundu ($p=0,039$) (Tablo 6).

Hastalık klinik aktivitesi açısından mutasyon (+) ve (-) olanlarda BASDAI skoru 3,50 (2-5) ve 3 (1-7) olarak bulundu ($p=0,332$). Mutasyon (+) ve (-) olanlarda BASFI skoru 3,25 (1-6,60) ve 2 (0-8,50) idi ve anlamlı fark saptanmadı ($p=0,463$). Anti-TNF tedaviyi mutasyon (+) 6 hasta (6/19, %31) ile mutasyon (-) 15 hasta (15/78, %20) almaktaydı. İki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,351$) (Tablo 6).

Mutasyon varlığının radyolojik hasarla da ilişkisi olmadığı gözlemlendi Mutasyon (+) ve (-) hastalarda mSASSS sırasıyla 23,50 (2-72) ve 14 (1-72) ($p=0,477$), BASRI ise 4,50 (2-12) ve 5 (2-12) olarak bulundu ($p=0,921$) (Tablo 6).

TARTIŞMA

AS, spondilartropati grubu hastalıklar içerisinde en sık görülenidir. Tipik olarak spinal kolon ve sakroiliak eklemleri, entez bölgelerini ve bazı hastalarda da periferik eklemleri tutan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. HLA-B27 ve AS arasındaki kuvvetli genetik ilişki iyi bilinmektedir.¹

Ülkemizde AS ve spondilartropatlere ait prevalansın saha çalışmaları ile değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ege Bölgesi'nde yapılan kapsamlı bir prevalans çalışmasında, tek başına AS prevalansı %0,49 ve spondilartropati prevalansı %1,05 olarak bildirilmiştir.¹⁷

TABLO 5: Ankilozan spondilit hastalarında ve kontrol grubunda MEFV mutasyonu genotip ve taşıyıcılık oranları.

Mutasyon	Genotip	AS (n=97)	Kontrol (n=186)	p değeri
E148Q n(%)	Homozigot (+/+)	0	0	$p=1$
	Heterozigot (+/-)	10 (%10,31)	20 (%10,71)	
M694V n(%)	Homozigot (+/+)	0	0	$p=1$
	Heterozigot (+/-)	5 (%5,21)	9 (%4,81)	
M680I n(%)	Homozigot (+/+)	0	0	$p=0,611$
	Heterozigot (+/-)	2 (%2,51)	2 (%1,07)	
V726A n(%)	Homozigot (+/+)	0	0	$p=0,721$
	Heterozigot (+/-)	2 (%2,51)	6 (%3,21)	
Toplam		19 (%19,51)	37 (%19,91)	$p=0,881$

AS: Ankilozan spondilit.

TABLO 6: Ankilozan spondilit grubunda mutasyon varlığının demografik, klinik ve radyolojik olarak etkileri.

	Mutasyon (+) (n=19)	Mutasyon (-) (n=78)	p değeri
Yaş	44 (34-53)	43 (22-68)	0,282
Hastalık süresi (yıl)	19 (3-24)	13 (2-30)	0,039
BASDAI	3,50 (2-5)	3 (1-7)	0,332
BASFI	3,25 (1-6,60)	2 (0-8,50)	0,463
mSASSS	23,50 (2-72)	14 (1-72)	0,477
BASRI	4,50 (2-12)	5 (2-12)	0,921

BASDAI: Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi; BASFI: Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonellik İndeksi; BASRI: Bath Ankilozan Spondilit Radyolojik İndeksi; mSASSS: Modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Omur Skoru.

Sıklıkla non-Askenazi musevilerde, Türklerde, Ermenilerde ve Araplarda görülen FMF, oto-inflamatuar bir hastalıktır.¹⁸ FMF'nin iki farklı fenotipi vardır. Fenotip I olguların çoğunu oluşturur. Tipik atak öyküsü vardır. Fenotip II daha nadir görülür. Tipik atak öyküsü olmaksızın AA tipi amiloidoz (sekonder amiloidoz) vardır.¹⁹ Türklerde Fenotip I FMF prevalansı 1/1000, taşıyıcılık ise 1: 3-5 olarak saptanmıştır.²⁰

Her iki inflammatuar hastalığın da (AS ve FMF) ülkemizdeki prevalansları yüksek olduğundan, birlikte görülme olasılıkları da yüksektir. Bununla birlikte her iki hastalığın birlikte görüldüğü durumlar literatürde az sayıda vaka bildirimini olarak yer almaktadır. Aynı zamanda, Türkiye'deki MEFV geni mutasyonları taşıyıcılığının da sıklığının yüksek olduğu bilinmektedir. Sağlıklı populasyonun bir alt gurubu olan ve FMF'nin klinik belirtilerinin bulunmadığı AS hastalarında da, toplumdaki taşıyıcılık oranında MEFV geni mutasyonu taşıyıcılığı bulunmaktadır.

MEFV mutasyonlarının FMF dışı hastalıklarda da varlığı bilinmektedir. RA, JIA ve MS hastalarında MEFV mutasyon sıklığında artış olmaksızın, mutasyon taşıyan bireylerde hastalık şiddetinin daha ağır olduğu daha önce bildirilmiştir.^{5,6,9} Çalışmamızda AS hastalarında MEFV mutasyon sıklığı SK grubundan farklı bulunmamıştır. Diğer bir anlatımla, MEFV mutasyonları prevalansı Türk toplumundaki taşıyıcılık kadardır. MEFV mutasyon sıklığında artış bulunmaması, bu gen mutasyonla-

rının AS hastalığının ortaya çıkışında etkileri bulunmadığı şeklinde değerlendirilebilir. Bu bulgu literatürde yer alan ve RA, MS ve inflammatuar barsak hastalığı ile ilgili veriler ile de paralellik göstermektedir. Ancak BH'de artmış MEFV mutasyonu sıklığının varlığı, AS verisinden farklıdır. Her iki çalışmada da kliniğimizde ve aynı materyal ve metodoloji kullanılarak yürütülmüştür.⁷ Farklılık, olasılıkla AS ve BH patogenezlerinin farklı doğasından kaynaklanmaktadır. BH, yoğun relaps ve remisyonlarla seyreden ve patogenezinde ağırlıklı olarak nötrofillerin yer aldığı inflammatuar bir hastalıktır.^{21,22} FMF hastalığı da benzer şekilde relaps ve remisyonlar ile ilerleyen ve patogenezinde temel olarak innate (doğal) immunitenin yer aldığı ve nötrofillerin etkilendiği bir hastalıktır. MEFV geninin kodladığı pirin proteini, dolaşımdaki nötrofillerden salınmaktadır. Literatürde, pirin proteininin, inflamasyonun intrasellüler kontrolünde rol aldığı destekleyen veriler yer almaktadır. Bu gen üzerinde tanımlanan nokta mutasyonları, pirin proteininin normal fonksiyonunu bozarak, olasılıkla daha şiddetli bir inflammatuar yanıtı neden olmaktadır. Pirin, direkt veya indirekt olarak inflamasyonun down-regülasyonunda rol oynar, ve pirinin anti-inflamatuar etkisi olduğu düşünülmektedir.⁴ MEFV genindeki herhangi bir mutasyon, anormal pirin proteinlerinin sentezlenmesine neden olarak, inflamasyonun etkin olarak baskılanmasını engellemektedir. BH patogenezinde hem innate (doğal) hem de adaptif (edinsel) immun sistemler yer almaktadır.^{21,22} Th1 ağırlıklı proinflammatuar sitokin profili hakimdir. Bu nedenle, BH patogenezinde spesifik bir primer immun bozukluğun bulunduğu düşünülmektedir. Örneğin, proinflammatuar bir sitokini ya da regülatuar rolü olan bir faktörü etkileyebilecek bir mutasyonun, erken ve yoğun nötrofil ve T hücre yanıtına neden olduğu düşünülebilir. Bu nedenle RA, MS ve AS'den farklı olarak BH'de MEFV gen mutasyonlarının artmış sıklıkta bulunması, hastalığın ortaya çıkışını kolaylaştıran ek bir genetik faktör olmasıyla ilişkili olarak düşünülebilir. AS'de ise patogenezde ağırlıklı olarak adaptif (edinsel) immunitenin rol aldığı düşünülmektedir. Henüz belirlenememiş antijenler ve CD4, CD8 ve CD28 gibi ko-stimulatuar mo-

leküller tarafından uyarılmış, T hücre aracılıklı inflamatuvar ve otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilmektedir.²³ Bu olası antijenler daha önce grubumuz tarafından da AS patogenezindeki rolleri açısından değerlendirilmiştir.²⁴ AS'de MEFV mutasyonunun kontrol grubundaki sıklıkta bulunması, MEFV mutasyonlarının pirin üzerindeki etkisinin dolaşımdaki nötrofilleri ve ağırlıklı olarak doğal immünite mekanizmalarını etkilemesi, ve doğrudan AS patogenezinde katılmaması nedeni ile olduğu düşünülebilir. Ancak MEFV mutasyonu taşıyan AS hastalarında BASDAI ile değerlendirilen hastalık aktivitesinin daha yüksek olma eğilimi, hastalık patogenezinde bağımsız bir faktör olarak MEFV mutasyonlarının hastalığın klinik belirtilerini arttırdığı yönünde değerlendirilebilir. MEFV geni üzerinde tanımlanan nokta mutasyonları, pirin proteininin normal fonksiyonunu bozarak daha şiddetli bir inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Olasılıkla pirin, direkt veya indirekt olarak inflamasyonun down-regülasyonunda (baskılanmasında) rol oynamaktadır.⁴

FMF ile klinik benzerliği nedeniyle değerlendirilen bir diğer hastalık olan Crohn hastalığının patogenezinde, mukozal nötrofil fonksiyon değişikliği öne sürülmüştür. Buradan yola çıkılarak yapılan çalışmalarında Fidler ve ark. Crohn hastaları ve normal popülasyon arasında MEFV gen mutasyonlarının sıklığı arasında fark olmadığını, ancak darlıkla seyreden hastalık ve barsak-dışı bulguların MEFV geni taşıyıcılarında daha sık olduğunu bildirmişlerdir.¹⁰ Benzer şekilde Karban ve ark. tarafından 209 Crohn hastasında MEFV gen mutasyonu sıklığı ve hastalık şiddetine ilişkisini araştırılmış, ve MEFV gen mutasyonu sıklığının kontrol grubundan farklı olmadığı bildirilmiştir.²⁵ Bu bulgular da, AS'de olduğu gibi MEFV'nin Crohn hastalığı için önemli ve primer bir gen olmadığını göstermektedir.

İnflamasyon üzerindeki etkileri daha önce bildirilen MEFV gen mutasyonlarının, patogenezinde nötrofillerin rolünün daha sınırlı olduğu bir inflamatuvar hastalık olan RA'daki varlığı araştırılmıştır. Rabinovich ve ark. tarafından 98 RA'lı hastada E148Q, M694V ve V726A mutasyonlarının sıklığı

araştırılmış, mutasyon sıklığı SK grubundan farklı bulunmamış (RA'lı grup mutasyon pozitif 19/98; SK mutasyon pozitif 12/100, p=0,13), fakat hastalık şiddeti açısından özellikle E148Q mutasyon taşıyıcılarında hastalığın daha şiddetli seyrettiği bildirilmiştir.⁵ Bu bulgu da MEFV mutasyonlarının doğrudan patogenezinde yer almadığı düşünülen hastalıklarda, hastalığın ortaya çıkışında etkili olmasalar da genel olarak proinflamatuvar bir etki yaratarak kronik inflamatuvar hastalıkların şiddeti arttırabilecekleri görüşünü desteklemektedir.

Literatürde AS ve MEFV mutasyonu birlikteliğini araştırılan az sayıda çalışma mevcuttur. Çınar ve ark. tarafından 95 AS hastasında yapılan bir çalışmada; M694V, V726A, E148Q, M680I, M694I, P369S, F479L, ve R761H mutasyon sıklıkları, ve bunların hastalık şiddetine etkileri değerlendirilmiştir.²⁶ Çalışmamız sonuçları ile paralel şekilde bu çalışmada AS hastalarının %30,50'sinde en az bir mutasyon varlığı tespit edilmiş, fakat klinik veya laboratuvar değerleri açısından hastalık şiddeti farklı bulunmamıştır.²⁷ Benzer şekilde, Durmuş ve ark. 80 AS hastasında MEFV mutasyon sıklığı ve klinik şiddet üzerine olan etkisini değerlendirmiş, ve iki grup arasında mutasyon sıklığı açısından anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir (AS grubu mutasyon pozitif 24/80; SK mutasyon pozitif 17/85, p=0,13).²⁶

Cosan ve ark. 193 AS hastası ve 103 sağlıklı kişide MEFV mutasyonlarını değerlendirmiştir.²⁸ Özellikle HLA-B27 negatif hastalarda MEFV mutasyon varlığının arttığı saptanmıştır. M694V gen mutasyonunun öne çıktığı belirtilmiştir. (OR=4,73, %95 GA 1,39-16,12). Bu durumu FMF görülme sıklığı yüksek olan toplumlardaki AS hastalarında mutasyon sıklığının da artması beklenmektedir diyerek yorumlamışlardır, ve daha geniş sayı içeren hasta gruplarında çalışılması gerektiği bildirilmiştir.²⁸

Literatürde Akkoç ve ark. tarafından yapılan ve 62 AS hastasının, 50 SK ve 46 RA hastasıyla MEFV mutasyonları açısından karşılaştırıldığı bir çalışma mevcuttur.²⁹ Bu çalışmanın sonucunda, AS grubunda sadece M694V mutasyon taşıyıcılığında diğer iki gruba göre artış saptanmıştır (p=0,026 AS'li hastalara karşı SK, p=0,046 AS'li hastalara

karşı RA'lı hastalar, ve $p=0,008$ AS'li hastalara karşı SK ve RA'lı hastalar). Bu sonucun başka çalışmalar ve daha geniş hasta grubu örnekleri ile hastalık şiddetine ve kliniğe etkisi açısından araştırılması gerektiği bildirilmiştir.²⁹

Sonuç olarak çalışmamızda AS hastalığında FMF'ye özgü olarak düşünülen MEFV mutasyon sıklığının artmadığı saptanmıştır. Literatürde aksini bildiren çalışmalar da olduğundan, geniş serili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Märker-Hermann E, Höhler T. Pathogenesis of human leukocyte antigen B27-positive arthritis. Information from clinical materials. *Rheum Dis Clin North Am* 1998;24(4):865-81.xi.
- French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997;17(1):25-31.
- Balow JE Jr, Shelton DA, Orsborn A, Mangelsdorf M, Aksentijevich I, Blake T, et al. A high-resolution genetic map of the familial Mediterranean fever candidate region allows identification of haplotype-sharing among ethnic groups. *Genomics* 1997;44(3):280-91.
- Bertin J, DiStefano PS. The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins. *Cell Death Differ* 2000;7(12):1273-4.
- Rabinovich E, Livneh A, Langevitz P, Breznik N, Shinar E, Pras M, et al. Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. *Ann Rheum Dis* 2005;64(7):1009-14.
- Rozenbaum M, Rosner I. Severe outcome of juvenile idiopathic arthritis (JIA) associated with familial Mediterranean fever (FMF). *Clin Exp Rheumatol* 2004;22(4 Suppl 34):S75-8.
- Atagunduz P, Ergun T, Direskeneli H. MEFV mutations are increased in Behçet's disease (BD) and are associated with vascular involvement. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21(4 Suppl 30):S35-7.
- Touitou I, Magne X, Molinari N, Navarro A, Quellec AL, Picco P, et al. MEFV mutations in Behçet's disease. *Hum Mutat* 2000;16(3):271-2.
- Shinar Y, Livneh A, Villa Y, Pinhasov A, Zeitoun I, Kogan A, et al. Common mutations in the familial Mediterranean fever gene associate with rapid progression to disability in non-Ashkenazi Jewish multiple sclerosis patients. *Genes Immun* 2003;4(3):197-203.
- Fidder H, Chowes Y, Ackerman Z, Pollak RD, Crusius JB, Livneh A, et al. The familial Mediterranean fever (MEFV) gene as a modifier of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2005;100(2):338-43.
- van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27(4):361-8.
- 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.
- MacKay K, Mack C, Brophy S, Calin A. The Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI): a new, validated approach to disease assessment. *Arthritis Rheum* 1998;41(12):2263-70.
- Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O'Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994;21(12):2281-5.
- Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994;21(12):2286-91.
- Medlej-Hashim M, Loiselet J, Lefranc G, Mégarbané A. [Familial Mediterranean Fever (FMF): from diagnosis to treatment]. *Sante* 2004;14(4):261-6.
- Onen F, Akar S, Birlik M, Sari I, Khan MA, Gurler O, et al. Prevalence of ankylosing spondylitis and related spondyloarthritides in an urban area of Izmir, Turkey. *J Rheumatol* 2008;35(2):305-9.
- Meyerhoff J. Familial Mediterranean fever: report of a large family, review of the literature, and discussion of the frequency of amyloidosis. *Medicine (Baltimore)* 1980;59(1):66-77.
- 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.
- Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, et al.; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005;84(1):1-11.
- Direskeneli H, Gül A. ISBD basic research perspectives. A preliminary "outline" for basic research workshop studies. *Adv Exp Med Biol* 2003;528:293-9.
- Fei Y, Webb R, Cobb BL, Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G, Sawalha AH. Identification of novel genetic susceptibility loci for Behçet's disease using a genome-wide association study. *Arthritis Res Ther* 2009;11(3):R66.
- Pham T. Pathophysiology of ankylosing spondylitis: what's new? *Joint Bone Spine* 2008;75(6):656-60.
- Atagunduz P, Appel H, Kuon W, Wu P, Thiel A, Kloetzel PM, et al. HLA-B27-restricted CD8+ T cell response to cartilage-derived self peptides in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005;52(3):892-901.
- Karban A, Dagan E, Eliakim R, Herman A, Neshet S, Weiss B, et al. Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in patients with Crohn's disease. *Genes Immun* 2005;6(2):134-9.
- Durmuz D, Alayli G, Cengiz K, Yigit S, Canturk F, Bagci H. Clinical significance of MEFV mutations in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2009;76(3):260-4.
- Cinar M, Dinc A, Simsek I, Erdem H, Koc B, Pay S, et al. The rate and significance of Mediterranean fever gene mutations in patients with ankylosing spondylitis: a three-month, longitudinal clinical study. *Rheumatol Int* 2008;29(1):37-42.
- Cosan F, Ustek D, Oku B, Duymaz-Tozkir J, Cakiris A, Abaci N, et al. Association of familial Mediterranean fever-related MEFV variations with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2010;62(11):3232-6.
- Akkoc N, Sari I, Akar S, Binicier O, Thomas MG, Weale ME, et al. Increased prevalence of M694V in patients with ankylosing spondylitis: additional evidence for a link with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2010;62(10):3059-63.