

***MEFV* GEN MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLERDE
YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ELDE
EDİLMİŞ YAYGIN VE YENİ VARYANTLARIN VERİ
TABANLARINDA ANALİZLERİ: RETROSPEKTİF
ÇALIŞMA**

Zeynep KURT



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEFV GEN MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLERDE YENİ NESİL
DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLMİŞ YAYGIN VE YENİ
VARYANTLARIN VERİ TABANLARINDA ANALİZLERİ: RETROSPEKTİF
ÇALIŞMA**

Zeynep KURT
0000-0003-2466-2335

Dr. Öğr.Üyesi Elif Uz Yıldırım
(Danışman)
0000-0002-1459-5485

Doç. Dr. Şebnem Özemri Sağ
Uludağ Üniversitesi
(İkinci Danışman)
0000-0002-3948-8889

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA– 2019
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Zeynep KURT tarafından hazırlanan “MEFV GEN MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLERDE YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLMİŞ YAYGIN VE YENİ VARYANTLARIN VERİ TABALARINDA ANALİZLERİ: RETROSPEKTİF ÇALIŞMA” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM

İkinci Danışman : Doç. Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ
Bursa Uludağ Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD

Başkan: Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM
Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Dilek PİRİM
Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hande KOÇAK
Demiroğlu Bilim Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel Eren
Enstitü Müdürü

.././....

B. U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

.../.../.....

Zeynep KURT

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MEFV GEN MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLERDE YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLMİŞ YAYGIN VE YENİ VARYANTLARIN VERİ TABANLARINDA ANALİZLERİ: RETROSPEKTİF ÇALIŞMA

Zeynep KURT

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM

İkinci Danışman :Doç. Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ (Uludağ Üniversitesi)

MEFV geni 16. Kromozomun kısa kolu üzerinde 115 kb'lık bir bölge üzerindedir. Bu gen yaklaşık 3.7 kb uzunluğunda bir transkript kodlar. Genin ürünü 781 aminoasitlik pirin proteinidir. Pirin sadece olgun granülositlerde ifade olur. Pirinin görevi nötrofil aktivasyonunu azaltıp inflamasyonu baskılamaktır. Pirinin dört domaininden biri olan B30.2'dur. B30.2 bölgesinin ekspresyonu ile kaspaz-1 aktivasyonu olur ve IL-1b üretimini azaltır. Pirin mutasyona uğrayınca sıradan uyarıcılara cevap olarak aşırı derecede IL-1b üretimine neden olur. Çalışmalar atak dönemde İnterlökin IL-2, IL-6, IL-8 ve Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır. FMF (familial mediterranean fever) hastalığı *MEFV* genindeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan otoinflamatuvar hastalıkların en sık görülenidir. Hastalık ani başlayan ateş ve seröz zarların inflamasyonu ile karakterizedir. Akdeniz çevresinde yaygın olan hastalık Seferadik Yahudiler, Ermeniler, Araplar ve Türkler arasında yaygındır. Bu çalışmanın amacı FMF hastalığına sebep olan *MEFV* gen varyantlarını tespit etmek, sınıflandırmak ve yeni varyantlar tespit edip varyant sınıflandırmasına kazandırmaktır. Çalışmaya katılan 673 erkek, 841 kadın toplam 1514 hastadan alınan kan örnekleriyle NGS dizilime yardımıyla gen analizi yapılmıştır. Sophia DDM progamıyla analizisyonucun da 75 tanesi ekzonda 29 tanesi intronda olmak üzere 104 varyant tespit edilmiştir. Tespit edilen bu varyantların 7 tanesi ekzonik 6 tanesinde intronik olmak üzere 13 tanesi novel varyanttır. Sonra elde edilen bu varyantlar çeşitli *insilico* analizler kullanarak patojenik özellikte olup olmadığına göre çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmuştur. Ayrıca birçok veritabanıyla analiz edilerek post-translasyonel modifikasyonlarda rolü olup olmadığı anlaşılmasına çalışılmıştır. Elde edilen varyantların allel frekansı üzerine çalışılarak ne kadar sıklıkla görüldüğü hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *MEFV* geni, FMF, kaspaz-1, İnterlökin
2019,ix + 76 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

ANALYSIS OF WIDE AND VARIANTS OBTAINED BY NEW GENERATION LAYOUT METHOD IN INDIVIDUALS WITH *MEFV* GENE MUTATIONS: RETROSPECTIVE WORK

Zeynep KURT

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM

Second Supervisor: Doç. Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ (Uludağ University)

The *MEFV* gene is located on the short arm of chromosome 16 spanning a region of 115 kb in human. This gene encodes a transcript of approximately 3.7 kb. The product of this gene encodes 781 amino acid pyrin protein. Pyrin is expressed only in mature granulocytes. The major function of pyrin is to reduce neutrophil activation and suppress inflammation. B30.2, one of the four domains of pyrin; interacts with caspase-1. It reduces activation of caspase-1 and production of IL-1b. Excessive production of IL-1b in response to ordinary stimuli has been recorded on pyrin mutations. Interleukin IL -2, IL-6, IL-8 and Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) levels were found to be high during the attack period. FMF (Familial Mediterranean Fever) is one of the most common auto-inflammatory diseases caused by mutations in the *MEFV* gene. The disease is characterized by sudden onset of fever and inflammation of serous membranes. FMF is widespread in the Mediterranean region and common especially among Sephardic Jews, Armenians, Arabs and Turks. The aim of this study was to identify and classify *MEFV* gene variants in Turkish FMF patients using *in silico* tools. Novel variants are also determined and classified in this context. Sequencing of the gene is performed using Next Generation Sequencing. DNA was obtained from peripheral blood samples obtained from 1514 patients (673 males and 841 females). Initial data were analyzed with Sophia DDM program. As a result, 104 variants were detected. 75 of them were located in exons and 29 in introns. Of these variants, 13 were novel (7 exonic and 6 intronic). These variants were then subjected to various classifications according to their pathogenicity using various *in silico* analyzes. In addition, the amino acid changes have been analyzed using web tools to determine whether these changes have a role in post-translational modifications. Lastly, allele frequencies of the variants were calculated and compared to the previous data in the literature.

Keywords: *MEFV* gene, FMF, caspase-1, Interleukin
2019,ix + 76 pages

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana her anlamda ilham kaynağı olan ve sadece bilimsel yada akademik değil hayata dair de çok şey öğrendiğim ve bana her zaman sonsuz anlayış ve güven sunan bu süreçte sadece öğreticim değil aynı zamanda yol arkadaşымda olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda çalışmamda bana yol gösteren ve değerli bilgilerini benimle paylaşan ve bu süreç boyunca yanımda olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilek PİRİM hocama teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmama değerli katkılarından dolayı değerli hocam Doç. Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ, değerli hocam Doç. Dr. Şehime G TEMEL ve Uludağ Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim dalındaki değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte beraber çalıştığım yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Niyazi KAYA' ya teşekkür ederim. Tez döneminde tanıştığım ve bana tüm bu süreçte destek olan ve arkadaşlık eden değerli arkadaşım Sümeyye KAPLAN' a her şey için teşekkür ederim. Hukuk Fakültesinden arkadaşım olan ve tüm yüksek lisans hayatım boyunca bana destek olan ve benim için zor olan bu süreci kolaylaştıran değerli arkadaşım Sümeyye AY' a çok teşekkür ederim.

Lisans eğitimini beraber tamamladığım yanımda olmasalarda her zaman desteklerini hissettiğim canım arkadaşlarım Handan UĞUZ, Tansu KAVALCI ve Rabia UYARICI' ya arkadaşım oldukları ve diğer her şey için teşekkür ederim.

Onlar olmadan bu zorlu süreci tamamlayamayacağım her zaman destek, sevgi ve anlayış sunan sadece ailem olmayıp dostumda olan güvenlerini esirgemeyen canım annem Sündüs KURT ve canım babam Hayati KURT' a en içten dileklerle teşekkür ederim. Ve son olarak dünyadaki en iyi kardeş olan beni hep mutlu eden canım kardeşim Enes KURT' a çok teşekkür ederim.

Zeynep KURT

.../.../.....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜRLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZGİLER DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. <i>MEFV</i> Geni Tanımlanması ve Fonksiyonu	2
2.2.Otoinflamatuvar Hastalıklar ve FMF	12
2.3 FMF Hastalığının Epidemiyolojisi.....	13
2.3.1. Türkiye’ de FMF prevalansı.....	16
2.4. Genotip/Fenotip Kolerasyonları.....	16
2.5.Türk Popülasyonunda Yaygın Olarak Görülen Alleller	20
2.6. FMF Hastalığının Tanısı.....	21
2.7. FMF Hastalığının Tedavisi.....	23
2.7.1. Kolşisinle tedavi.....	23
2.7.2. IL-1 inhibitörleri ve biyolojik ajanlar	24
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1. Varyantların Tespiti	25
3.1.1. Örnek materyaller.....	25
3.1.2. DNA izolasyonu ve yeni nesil dizileme	25
3.1.3. Ham verinin işlenmesi	25
3.2. Genotip Dosyasının Oluşturulması	26
3.3. Biyoinformatik Analizler	27
3.3.1. Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan veri tabanları.....	27
3.3.1.1. Infevers.....	27
3.1.1.2SIFT.....	27
3.3.1.3. Mutation Taster	28
3.3.1.4. Polyphen.....	28
3.3.1.5. RegulomeDB.....	29
3.3.3. Post-translasyonel modifikasyonları tespit etmek için kullanılan veri tabanları	30
3.3.3.1. NetOGlyc	30
3.3.3.2. NetPhos	30
3.3.3.3. NetSurfP.....	31
3.3.3.4. SNPs&GO	31
3.3.3.5. Sulfinator.....	32
3.3.3.6. SUMOplot.....	32
3.3.3.7. UbPred	33
3.3.4.Amerikan Tıbbi Genetik Koleji [American College of Medical Genetics (ACMG)]kriterlerine göre varyantların sınıflandırılması	33
3.3.5. gnomAD ile varyantların allel frekanslarının hesaplanması	36
3.3.6. Haploview programı ile frekans hesaplama.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Varyantların Sınıflandırılması	37

Sayfa	
4.1.1.	Varyantların Infevers veri tabanıyla karşılaştırılması 39
4.2.	Varyantların Protein Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi 39
4.2.1.	SIFT veri tabanından elde edilen sonuçlar 39
4.2.2	Mutation Taster veri tabanından elde edilen sonuçlar 39
4.2.3	Polyphen veri tabanından elde edilen sonuçlar 40
4.2.4	RegulomeDB veri tabanından elde edilen sonuçlar 40
4.3	Proteinlerin Post-translasyonel Modifikasyonlarının İncelenmesi 42
4.3.1	NetOGlyc 42
4.3.2.	NetPhos 43
4.3.3.	NetSurfP 44
4.3.4.	SNPs&GO 45
4.3.5.	Sulfinator 46
4.3.6.	SUMOplot 46
4.3.7.	UbPred 46
4.4.	Varyantların ACMG Kriterlerine Göre Sınıflandırılması 47
4.5.	gnomAD ve Haploview Programı Bulunan Allel Frekasları 47
4.6.	Novel Varyantlarda Değişimlerin Fenotip Üzerindeki Etkisi 48
	KAYNAKLAR 60
	EKLER 64
	EK 1 65
	EK 2 71
	EK 3 72
	EK 4 73
	ÖZGEÇMİŞ 76

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

ϵ	Epsilon
kb	Kilo baz
%	Yüzde
τ	Pi

Kısaltmalar Açıklama

A	Alanin
ABD	Amerika Bileşik Devletleri
ACMG	American College of Medical Genetics
AID	Auto İnflamatory Diseases
AIM2	Absent in Melanoma 2
ASC	Apoptosis Related Speck Like Protein Containing a CARD
BH	Behçet Hastalığı
CAPSn	Cryopyrin Associated Periodic Syndrome;
CARD	Caspase Recruitment Domain
CC	Coiled-Coil
CRP	C-Reaktif Protein
CTLD	C-type Lectin Domain
DD	Death Domain
DED	Death Effector Domain
DIRAmm	Deficiency of İnterleukin 1 Receptor Antagonist;
DITRA	Deficiency of İnterleukin 36 Receptor Antagonist
DNA	Deoksiribonükleikasit
E	Glutamat
FMF	Familial Mediterranean Fever
GATA	Gülhane Askeri Tıp Akademisi
gnomAD	The Genome Aggregation Database
GWAS	Genome-Wide Association Study
HGVS	Human Genome Variation Society
HIDS	Hiper Ig D Sendromu
HMM	Hidden Markov Models
HP	Helicobacter Pylori
I	İzolösin
IL	İnterlökin
LD	Linkage Disequilibrium

Kısaltmalar	Açıklama
LRR	Leucine-Richrepeat Domain
M	Metiyonin
MAF	Minor Allel Frekansı
MEFV	Familial Mediterranean Fever Gene
MHC	Major histocompatibility complex
MICA	Majör Histo Compatibility Complex class 1 Chain-Elated
A	
MKD	Mevalonate Kinase Deficiency;
NAPS12	NLRP12 Associated Periodic Syndrome;
NBD	Nucleotide-binding Domain
NBS	Nucleotide-Binding Site
NLRC4	NOD-, LRR- ve CARD domain-containing 4
NLRP1	NOD-, LRR- ve pyrin domain-containing 1
NLRP3	NOD-, LRR- ve pyrin domain-containing 3
NNS	Nakajo–Nishimura Syndrome;
NOD	Nucleotide-Binding Oligomerization Domain
PAAND syndrome	Pyrin- bir associated birutoinflammation neutrophilic
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern
PAPA	Pyoderma gangrenosum and acne
PFAPA	Farenjit, Adenopati Sendromu
PKN1	Pirin kinaz
PSTPIP1	Phosphatase-interacting protein
PYD	Pirin domaini
Q	Glutamin
Rfp	Ret finger Protein
Rs	Reference SNP
SAA	Seroamilooid A
SAP	Single aminoasit Polimorfizm
Ser	Serin
SIFT	Sorts intolerant From Tolerant
SNP	Single nucleotide polymorphism
SPYD	SPla Ryanodin Domain
TFMFK	Türk FMF Konsorsiyumu
TLR	Toll-likereceptors
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör-alfa
TRAPS	TNF receptor associated periodic syndrome;
TRIM	Tripartite motif
V	Valin
Wdr1	WD repeat domain 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1.Pirinin yapısı.....	3
Şekil 2.2. Nötrofillerin inflamasyonlu dokuya geçişi	6
Şekil 2.3. İnflamazom komplekslerinin işlevi.....	8
Şekil 2.4. NLR ailesinin karşılaştırılması	8
Şekil 2.5. Pirinin aktivasyonu ve toksinler sebebiyle aktive olamamsının sonuçları...	10
Şekil 2.6. Oto-immün hastalıkların uzun çağlar boyunca tanımlanması, genlerinin keşfi ve geleceği.....	12
Şekil 2.7. FMF' in dünyaya yayılması.....	14
Şekil 2.8. FMF sebep olan <i>MEFV</i> geninin yaygın iki mutasyonu olan M694V ile V726 allellerinin Dünyacoğrafyasına yayılması.....	15
Şekil 2.9. <i>MEFV</i> geni ekzonları (1-10) ve bu ekzonlarda görülen bazı mutasyonlar.....	17
Grafik 4.1. Lokasyonlara göre varyant sayıları.....	39
Grafik 4.2. Çalışma Sonucu Elde Edilen Varyantların RegulomeDB skorlar yüzdesi.....	42
Şekil 5. 1. LD (Linkage Disequilibrium) sonuçları.....	54

ÇİZGİLER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Oto-immün hastalıklar, keşfedildiği yıllar ve ilgili gen ailesi	13
Çizelge 2.3. Çeşitli ülke ve ırklara göre en çok gözlenen <i>MEFV</i> varyantları.....	20
Çizelge 2.4. Türkiye’ de Bölgesel Olarak En Sık Görülen <i>MEFV</i> Varyantları.....	21
Çizelge 2.5.FMF atak tipleri ve lokalizasyonları.....	22
Çizelge3.1.RegulomeDB skorları ve karşılığı	29
Çizelge 4.1. Varyantların tiplerine ve novel olup olmamasına göre sınıflandırılması.....	37
Çizelge 4.2: Tespit edilen varyantların lokasyonları, tipleri ve protein üzerindeki etkileri	38
Çizelge 4.3.MutationTaster veri tabanına göre varyantların sınıflandırılması.....	40
Çizelge 4.4.Missense Mutasyonlarla Polyphen Veri Tabanından Elde Edilen Sonuçlar	40
Çizelge 4.6. Novel Varyantların RegulomeDBveritabanındaki skorlarına göre ifade ettiği anlamlar.....	41
Çizelge 4.7. Çalışmada elde edilen <i>MEFV</i> varyantları arasında glikozilasyona uğrayabilecek olanlar ve elde edilen sonuç.....	43
Çizelge4.8. <i>MEFV</i> varyantları arasında fosforilasyona uğrayabilecek varyantlar ve bunlara aracılık edebilecek kinazlar.....	43
Çizelge 4.9. Çalışma ile elde edilen varyantlar arasında sinonim mutasyon gösteren aminoasitler hariç tüm varyantların Yüzey erişilebilirliği tahminleri gösteren z-fit skoru ve ikincil yapı tahminleri	44
Çizelge 4.10. Aminosit Değişimi Gösteren Varyantların SNPs&GO sonuçları	45
Çizelge 4.11.Sufinator ile tirozine dönüşen dizinin sülfatlanmadığı görülmüştür. Sonuç wildtype dizi ile aynıdır	46
Çizelge4.12.SUMOplot verilerine göre dizilerin SUMO ile bağlanma olasılığı.....	46
Çizelge 4.13.UbPRED veri tabanına göre varyatların tahmini skorları ve bağlanma gösterip göstermediği ve bağlanıyorsa göstereceği eşleşme oranı.....	47
Çizelge 4.14.Çalışmada elde edilen 104 varyantın ACMG kriterlerine göre sınıflandırılması	47
Çizelge 4.15.Missense varyantların gnomAD ve Haploview programına göre elde edilen sonuçları	48
Çizelge 4.16.Novelvaryantar içine ekzoniklokasyondaolalarınfenotipik özellikleri	49
Çizelge 5.1.Novel varyantlar içinde missense mutasyona sebep olan 5 varyantın <i>insilico</i> analiz sonuçları.....	51
Çizelge 5.2. <i>In silico</i> analiz sitelerinde ortak olarak tehlikeli olabilecek sonuçlar veren varyantlar.....	52
Çizelge 5.3.Novel varyantların MAF değerleri	52
Çizelge 5.4. Türk popülasyonunda yaygın olarak görülen varyantların çalışmadaki frekansları ile gnomAD veri tabanındaki frekanslarının karşılaştırılması	53
Çizelge 5.5. Yüksek frekansa sahip diğer varyantların sonuçları.....	53
Çizelge 5.6. Tel-Hashomerkriterleri doğrultusunda FMF için tanı ve olası tanı.....	55
Çizelge 5.7. Glikozilasyon ve Fosforilasyon tahmin sitelerinde ortak olarak etkilenen varyantlar.....	57

1.GİRİŞ

Otoinflamatuvar hastalıklar bağışıklıktaki işlev bozukluğundan kaynaklanan hastalıklardır. Bu hastalıklar enfeksiyon veya otoimmün nedenlerin yokluğunda meydana gelen tekrarlayan ateş ve inflamasyonla karakterizedir. Ailesel Akdeniz ateşi olarak bilinen FamilialMediterranean Fever (FMF) hastalığı bu hastalıklar arasında en yaygın ve en karakterize olanıdır (Manukyan ve Aminov 2016). Ailesel Akdeniz ateşi otoinflamatuvar hastalıkların prototipi olarak önerilmiştir. FMF hastalığında ilk vaka 1908 yılında Janeway ve Mosenthal tarafından bildirilse de, etkilenen ilk hasta serisi 1945 yılında New York' ta kendisi de hastalığın semptomlarını taşıyan Siegal tarafından bildirilmiştir. Hastalığın ailesel geçişli olduğu ve amiloidoz ile olan ilişkisi ise 1951 yılında Mamau ve Kattan tarafından bildirilmiştir(Çobankara veBalkarlı 2011). Ailesel Akdeniz ateşi ismi 1955 yılında Heller ve arkadaşları tarafından önerilmiştir (Fonessu ve ark. 2009). FMF genel olarak iki tiptedir. FMF tip 1 de ateş, peritonit, sinovit, plörit ve nadiren perikardit ve menenjit dâhil olmak üzere tekrarlayan kısa inflamasyon ve serözit nöbetleriyle karakterizeyken tip 2 FMF ise; amiloidoz ile karakterizedir. FMF Akdeniz' i çevreleyen popülasyonlarda görülür. Ancak ABD ve Japonya gibi bu alanla ilişkisi olmayan ülkelerde de vakalar bildirilmiştir(Ben Chetrit ve Tuitou 2009).

FMF hastalığına sebep olan *MEFV* geni dizisi ve kodladığı protein (FamilialMediterranean Fever Gene) 1997 yılında Uluslararası FMF Konsorsiyumu ve Fransız FMF Konsorsiyumu'nun çalışmalarıyla açıklanmıştır. *MEFV* geni 16. kromozomun kısa kolunda klonlanmıştır (International FMF Consortium 1997). Uluslararası FMF Konsorsiyumu *MEFV* geninin ürününe Pirin, Fransız FMF Konsorsiyumu ise Marenostin ismini vermişlerdir. *MEFV* geni 10 kb uzunluğunda olup, 10 ekzondan oluşur. 781 aminoasitli Pirin proteinini kodlar. Pirin proteini 4 farklı domain içerir. N-terminal ucunda yaklaşık 92 aminoasitlikPYD/Pirin domaini, C-terminal ucunda B30.2/rfp/SPYD domaini ve bu iki uç arasında sıkışmış B-box ve CC (coiled-coil) segmentleridir. Pirin proteininin inflamasyon baskılama özelliği olduğu ve her dokuda değil özellikle nötrofillerde bulunduğu ortaya çıkmıştır. Pirin proteini nötrofil aktivasyonunu baskılar ve inflamasyonu durdurur. *MEFV* geninde bir mutasyonun meydana gelmesiyle oluşan mutant pirin proteini antiinflamatuvar özelliğini kaybeder (ÇobankaraveBalkarlı 2011).

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *MEFV* Geni Tanımlanması ve Fonksiyonu

MEFV geni ve ürün proteini olan Pirinin fonksiyonu ve işlevi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan çalışmalar bu gen bölgesinin özellikle FMF hastalığıyla bağlantısını ortaya koyunca gene FMF hastalığı perspektifinden bakılıp bu bağlamda fonksiyon ve ürünlerinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

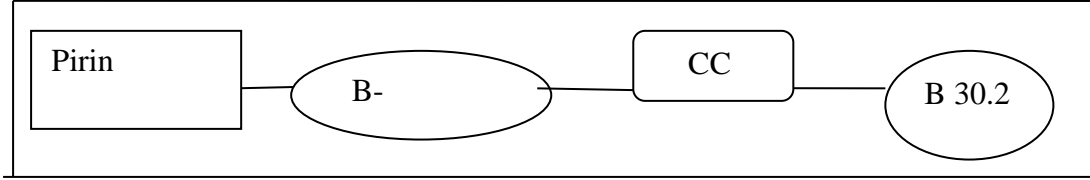
Gen ilk olarak 1997 yılında Uluslararası FMF Konsorsiyumu ve Fransız FMF Konsorsiyumu'nun ayrı ayrı çalışmalarıyla tanımlanmıştır.16. Kromozomun kısa kolunda 115kb'lık bir aralıktan FMF'e sebep olması muhtemel bir gen tanımlaması yapılmıştır. Tanımlanan gen sadece granüositlerde ifade edilen 3.7kb bir transkripti kodlar. Pirin olarak adlandırılan bu protein Ro52 oto antijenine homolog olan bir nükleer faktör ailesinin üyesidir. Ro52 molekülüotoantikörlerin ortak hedefidir. Antijenin hedef haline gelmesinde çeşitli faktörler etkilidir. Bu mekanizmalar tam olarak açıklanamasa da çeşitli hastalıkların klinik bulgularında ortak olarak gözlenebilir. Ro52 bir RING domaini, B-box kutusu domaini, coiled-coil domaini ve B.30.2domaini içerir. Ayrıca TRIM21 proteinin olarak da bilinir (Oke ve Wahren-Herlenius2012). Pirin transkriptinin NorthenBlot analizi ile periferik kan lökositlerinde yüksek ekspresyon gözlemlenirken lenf düğümü, dalak, timüs gibi yüksek oranda lenfositlerden oluşan bölgelerde ekspresyonuna rastlanmamıştır. Bu sonuçlar pirinin daha çok olgun granüositlerde ifade edildiğini göstermiştir.

Proteinin C-terminal ucunda korunan B30.2 (rfp) alanı bulunur. BLASTX ile homoloji gösterdiği yerlere bakılarak ve granüositlerde sentezlenmesine dayanılarak pirinin inflamasyon yanıtını kontrol eden bir nükleer faktör olduğu sonucuna varılmıştır.

FMF'in bir inflamasyonhastalığı olduğu ve *MEFV*'nininflamasyonregülatörü olan rfp ilehomoloji göstermesi infamasyonüzerinde düzenleyici etkisinin olabileceğini ortaya çıkarmıştır (TheInternational FMF Consortium, 1997).Gen hakkındaki bu ilk bulgular fonksiyonunun açıklanmasında ve bu amaçla yapılan çalışmalara öncü olmuştur.

MEFV geni 10 kb uzunluğunda olup, 10 ekzondan oluşur. 781 aminoasitli Pirin proteinini kodlar. Pirin proteini 4 farklı domain içerir. Şekil 2.1.' de gösterildiği üzereN-

terminal ucunda yaklaşık 92 aminoasitlik PYD/Pirin domaini, C-terminal ucunda B30.2/rfp/SPYD domaini ve bu iki uç arasında sıkışmış B-box ve CC (coiled-coil) domainleridir (Çobankara ve Balkarlı 2011).



Şekil 2.1. Pirinin yapısı (1-374 aminoasit arası N Terminal domain, 375-407 arası B-box domaini, 408-576 arası CC domini ve 577-781 arası B 30.2 domaini)

Pirin proteininin domainlerini açıklamak proteinin fonksiyonel olarak görev yaptığı alanları açıklamak için önemli olmuştur.

B-box domaini hücre içinde büyümeden farklılaşmaya kadar birçok alanda regülasyonu düzenleyen önemli bir motiftir. Bu genler alfa-helix,coiled-coil motifi, RING çinko parmak motifi, B30.2 yapısı gibi birçok motifle ilişkili korunmuş bölgeler içererek buralarla etkileşim içine girer. Bu motifteki mutasyonların ya da yeniden düzenlemelerin FMF, akut promyelositik lösemi gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Torok ve Etkin 2001).

Coiled-coil domaini yapısı ve ilişkili olduğu motifler gereği en çok çalışılan protein motiflerinden biri olmuştur. Önce lifli proteinlerde bulunan bu yapı zamanla çubuk şekilli proteinlerde de keşfedilmiştir. Bu yapının protein oligomerizasyonundan sorumlu olduğu bulunmuştur. Bu motifin işlevselliği tanıyıp bağlanabildiği aminoasit sekansı ile sınırlıdır (Beck ve Brodsky1998).

SPla / Ryanodin (SPRY) / B30.2 domaini yüksek ökaryotlarda yaygın bir motiftir. Bir kısmıimmün yanıtta kullanılmak üzere insan genomunun 103 SPRY domaini kodladığı bulunmuştur. Bu domaini içeren proteinlerin %45' i E3 ligazdır.B30.2 ailesi, insan kromozomunun Majör doku uygunluk kompleksi (MHC) I bölgesindeki tripartitemotif (TRIM) gen kümesinin keşfedilmesinden sonra karakterize edilen ilk aile olmuştur.Bugüne kadar, SPRY / B30.2 domaini içeren ve farklı fonksiyonları bulunan birçok protein bulunmuştur. SPRY / B30.2 bölgelerinin bilinen bir enzimatik aktivitesi

yoktur. Çoğu analiz bu domainin protein protein etkileşimlerinde görevli olduğunu göstermiştir. Domainin sinyal yollarında köprü görevi gören proteinlerin yapısına katıldığı görülmüştür, SPRY ve B30.2 domainleri birbirinden bağımsız olarak tanımlanmıştır. Birbirleriyle evrimsel olarak sıkı bir bağ oluşturduğu görülmüştür.

Ancak iki domainin birbirinden farkı SPRY domainin N-terminalinde olan PRY adı verilen küçük bir motifin varlığıdır. SPRY ve B30.2 ailelerinin evrimsel analizi sonucunda SPRY'nin B30.2'dan daha eski olduğu bulunmuştur. Sebep olarak SPYR tüm ökaryotların genomunda bulunurken B30.2 bölgeleri yalnızca adaptif bağışıklık sistemine sahip omurgalılarda bulunması gösterilmiştir(Perfetto ve ark. 2013).

Pirin proteininin en önemli domaini pyrin/PYD domainidir. Moleküler düzlemde protein protein etkileşimleri sinyal yolları için önemli görevler içerir.

Apoptoz sinyal yolları için genel olarak tanımlanan üç sınıf protein motifi death domain (DD), deatheffector domain (DED) ve caspase-recruitment domain (CARD) domaini bulunmuştur. Bu motifler sinyal aktarımında homotipik protein protein etkileşimleri için köprü görevi görür. Bu motiflere ek olarak PYD domainin de apoptoz ve inflamasyon için sinyal yolağı oluşturduğu görülmüştür. Bu işlevsel açıklama CARD4 ailesinin yapısının hücre ölümünde görevli bitki protein ailesi olan nucleotide-binding domain (NBD) ve C-terminal leucine-richrepeats (NBS/LRR) ile benzerliği neticesinde araştırılmıştır. Bu ailenin CARD motifi yerine Toll / interleukin-1 alıcı homolojideini kullanarak bu işlevi gerçekleştirdiği görülünce yeni motifler aranmış ve BLASTS teknolojisi kullanılarak insan, fare ve sıçan Pirini'nin büyük oranda korunan N-terminal bölgesiyle yüksek oranda homoloji sağladığı görülmüştür (Bertin ve DiStefano2000) . Bu PYRIN domainin apoptoz ile olan ilişkisinin bir görünümüdür. PYD domaininin apoptoz ile ilişkisi genel olarak doğuştan gelen bağışıklık sisteminde kaspazlar yardımıyla apoptoz ve inflamasyon sisteminde etkisi olduğu bilinmektedir.

Pirinin inflamasyonla ilişkisini açıklamak kaspazlarla etkileşimini açıklamada yardımcı olacaktır. Genel olarak enfeksiyöz ajan saldırılarına karşı doğuştan gelen immün yanıtta dört önemli aile vardır. Birincisi TLR (Toll-likereceptors) olarak bilinen motif bakteri, virüs, protozoa ve mantarlardan türetilmiş çeşitli korunmuş mikrobiyal PAMP'leri (pathogen-associatedmolecularpatterns) tanıır.

İkincisi Sitosolik NLR (Sitoplazmik nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-benzeri, lösinden zengin tekrarlar (LRR) içeren reseptörler)'ler bakterileri algılar, üçüncüsü RLR'ler virüsleri algılar ve dördüncüsü CLR'ler (C tipi lektin reseptörleri) mantarları algılar ve bunlara uyumlu şekilde işlevseldir.

Bu dört grubun hepsinde bütün domainler olamasa da büyük kısmında yedi korunmuş domain mevcuttur. Bu domainler LRR (leucine-rich repeat) domain, TIR [Toll/IL (interleukin)-1 receptor] domain, NBS (nucleotide-binding site), CARD (caspase recruitment domain), PYD (pyrin domain), helicase domain ve CTLD (C-type lectin domain) domainlerdir. Anlaşıldığı üzere PYD domaininin sadece apoptoz ile bağlantısı değil diğer korunmuş domain aileleriyle birlikte immün sistemin inşasında etkili olduğu görülmüştür (Pålsson-McDermott ve O'Neill 2007).

Bununla birlikte FMF ataklarının en dikkat çeken özelliklerinden biri nötrofillerin iltihap bölgesine yoğun olarak sızmasıdır. Bu sebeple nötrofil doğası ve genel inflamasyon basamaklarını anlamak proteinin fonksiyonunu anlamakta önem kazanmıştır.

Nötrofiller lökositlerin (akyuvar) tiplerinden biridir. Lökositler vücudun savunma sisteminin hareketli birimleridir. Kanda normalde 6 çeşit lökosit bulunur. Bunlar polimorfonükleer nötrofiller, polimorfonükleer eozinofiller, polimorfonükleer bazofiller, monositler, lenfositler ve nadiren plazma hücreleridir. İlk üç tip hücre granüllü görünümde olduğu için granülosit olarak adlandırılır.

İnflamasyon; bakteri, travma, kimyasal maddeler, sıcaklık veya herhangi bir olay nedeniyle doku hasarı olduğunda bu hasarlı dokudan çok sayıda madde salınmasıyla doku çevresinde ikincil değişikliklere sebep olmasına denir.

Bir dokuda inflamasyon meydana gelmişse aşağıdaki değişikliklerin olması beklenir;

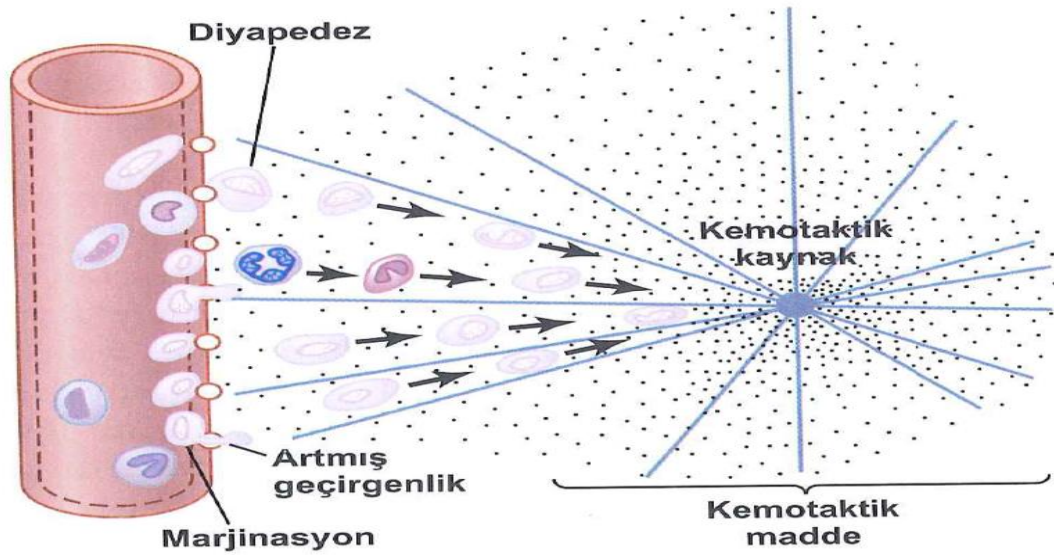
1. Kan damarlarından vazodilatasyona bağlı kan akımının artırılması
2. İntersistyal aralığa kapiller geçirgenliğin artırılmasıyla büyük miktarda sıvının geçmesi
3. İntersistyaldeki sıvının fibrinojen ve benzeri proteinlerle pıhtılaşması
4. Dokuya çok sayıda granülosit ve monosit göçü

5.Sonucunda doku hücrelerinin şişmesidir.

İnflamasyon başladığında ilk önce dokuda var olan makrofajlar etkinlik gösterir. İnflamasyon başladıktan sonraki ilk saat içinde nötrofiller kandan inflamasyon alanına yayılmaya başlar. Bu yayılımı sağlayan şey inflamatuarsitokinlerdir. Bunlara örnek olarak tümör nekroz faktörü ve interlökin-1 gösterilebilir.

Nötrofillerin inflamasyonlu dokuyu tanıyıp etki gösterme aşamaları ise Şekil 2.2' de gösterilmiştir. Bunlar;

- 1.) Kapiler ve venüllerin endotel yüzeyinde bulunan selektinler ve hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM) bağlanmayı kolaylaştıracak bazı moleküllerin salınımı gerçekleşir. Nötrofillerin üzerinde bulunan integrin molekülü ile bu moleküller etkileşime girerek bağlanma gerçekleşir.
- 2.) Hücreler arası bağlantı zayıflatılarak nötrofillerini diapedez ile kandan dokuya geçmesi sağlanır.
- 3.) Sonra nötrofillerini kemotaksis ile hasarlı dokuya yönlendirilmesi sağlanır (Guyton ve Hall 2007)



Şekil 2.2.Nötrofillerin inflamasyonlu dokuya geçişi (Guyton ve Hall 2007)

İnflamasyon aşamaları ve immün sistemin oluşumunda PYD domainin rolü oldukça etkilidir. Ancak bu etkinin anlaşılması için kaspazlarla olan ilişkiyi açıklamak önem

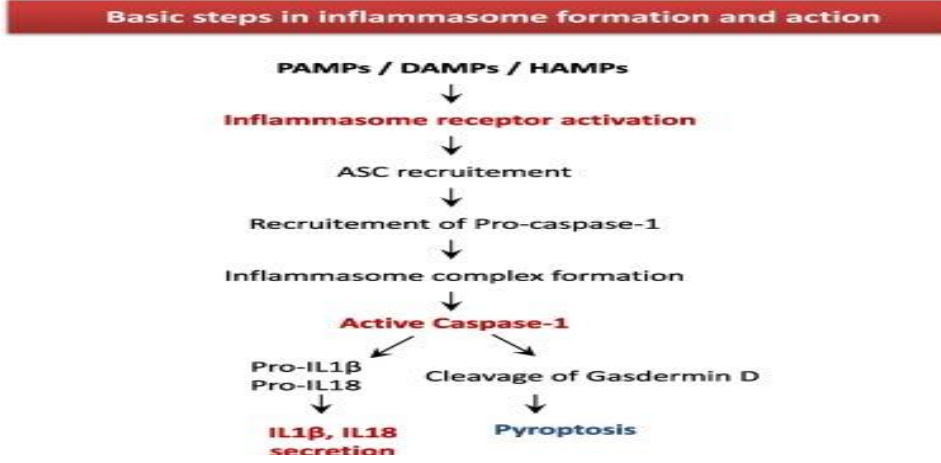
taşıır. Kaspaz fonksiyonuyla doğrudan bağlantılı olan inflamazom kompleksleri bu ilişkiyi açıklamaya yardımcıdır.

Sitokinler bağışıklık sisteminin kilit araçlarıdır. İnterlökin-1 (IL-1), IL-18 ve IL-33 sitokin aileleri kullanılan reseptör ve sinyal iletim yolları ile farklılaşır. Üç sitokindepro-sitokin halde yani öncü moleküller halinde sentezlenir ve hücreden salınmadan önce veya saldırı sırasında kaspaz-1 enzimi ile ayrılır. IL-1 enfeksiyon ve hastalıklarla mücadele için vücudu hazırlar. Örneğin vücut sıcaklığını artırır, uykuyu tetikler ve lenfosit atışını uyarır (Arend ve ark. 2008).

İnflamatuar hücreler tarafından IL-1b üretimi, inflamazom adı verilen ve temel görevi kaspaz-1'in aktivasyonu olan bir multiproteinkompleksi tarafından düzenlenir.İnflamazom kompleksigenel olarak üç aileden oluşur;

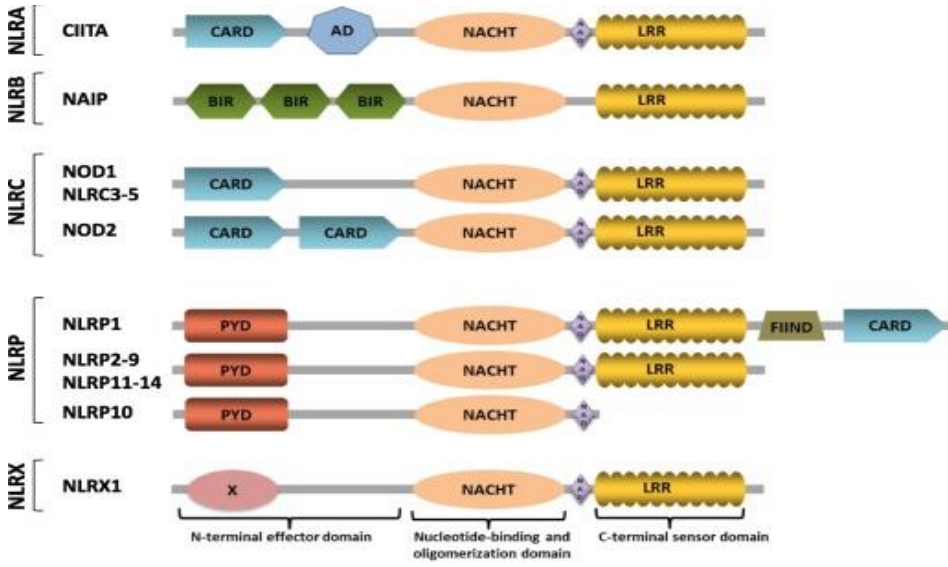
- 1.NLR ailesinin üyelerinden bir PRR,
- 2.bir adaptör protein olan ASC [apoptosisrelatedspecklike protein containing a CARD (caspaseactivationandrecruitment domain)]
- 3.kaspaz-1'in aktif formu

Şekil 2.3.'te gösterildiği üzere NLR, üzerinde bulunan ligantlarla bağlanarak oligomerize olur ve protein-bölge etkileşimleriyle ASC adaptör proteinine bağlanır. ASC ise kendinde bulunan CARD ve PYD ölüm domainlerinden CARD bölgesi yardımıyla prokaspaz-1'i biyolojik olarak aktif kaspaz-1'e dönüştürür. Aktif olan kaspaz-1 ise IL-1b, IL-18 ve IL-33 sitokinlerinin öncül formlarını proteolitik olarak keser ve aktif ve kullanılabilir formlarına dönüştürür (Günaydın ve ark. 2012).



Şekil 2.3.İnflamazom komplekslerinin işlevi(Awad ve ark. 2018)

NLR'ler mikrobiyal tanıma ve konak savunmasında yer alan ve immün hücrelerin stoplazmasında bulunan bir reseptör grubudur. Bu grubun sınıflandırılması Şekil 2.1.4' te gösterilmiştir. Buna göre; N- terminal alanı değişken olduğundan aile genel olarak beş gruba ayrılır. CARD ve PYD domaini içeren grup NLRP adlandırılan büyük gruptur.



Şekil 2.4.NLR ailesinin karşılaştırılması(Awad ve ark. 2018)

NLR ailesi genel olarak 5 gruptan oluşsa da bunlar arasında yaygın olan dört farklı inflamazom kompleksi bulunmaktadır (Günaydın ve ark. 2012).

İnflamazom kompleksleri sadece NLR domaini etrafında değil PYD domaini içeren proteinler etrafında da kümelenebilirler. FMF ile ilişkili mutasyonlar içeren insan B30.2

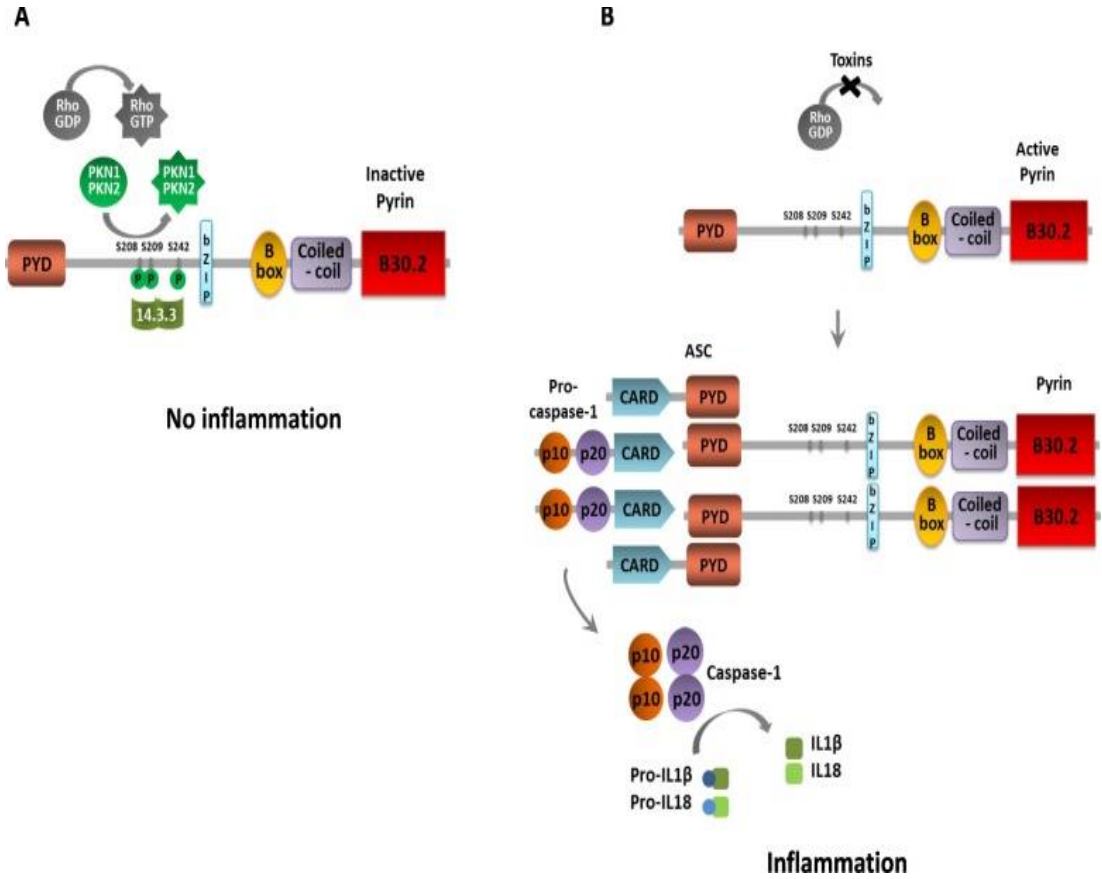
domainiyle kaynaşmış fare pirin proteinini barındıran homozigotknock-in farelerinin, NLRP3 inflamazom kompleksi taşımasa da bağımsız bir şekilde yüksek miktarda IL-1 β salgıladığı gösterilmiştir (Chae ve ark. 2011). Bu sonuç NLRP3 içermeyen bir inflamazom oluşumunun gerçekleşebildiğini göstermiştir.

Pirinin inflamasyondaki rollerini anlamada yardımcı olan diğer faktör bu bölgenin nötrofillerde ve monositlerde, eozinofillerde yani genel olarak olgun granülositerde ifade edilmesidir. Uzun süre önce oluşturulan bir hibrit protein olan 14-3-3 τ ve 14-3-3 ϵ proteinleri pirinin izoformu olarak tanımlanmıştır. Ancak bu ekzon 2 atlanarak alternatif splising ile oluşturulan form ile eş değildir. Pirinin fosforile edebileceği üç serin rezidüsünün Ser208, Ser209 ve Ser242 olduğu bulunmuştur. Etkileşimi sağlayacak ana etken ise Ser242 rezidüsüdür. Clostridiumdifficile A ve B toksinlerigibi bakteriyel toksinler pirini aktive eder. Bu toksinler, RhoAGTPaz'ın switch-1 bölgesini inaktive eder, oysa çalışmalarda gösterildiği üzere, RhoA, pirinin 208 ve 242'deki aminoasitlerine bağlanarak bunları fosforile eder ve pirininekinaz PKN1 ve PKN2'yi aktive eder. Bu etkileşim silsilesi Şekil 2.5.' te de gösterilmiştir.

RhoGTPaz'lar primer olarak aktin organizasyonun da dâhil birçok hücre sel fonksiyonda aktif rol üstlenirler. Bu ailenin birçok üyesi vardır. Bunlardan en iyi tanımlanmış ve aktin organizasyonunda rol oynayanları; "Rho", "Rac" ve "Cdc42" dir (Gül ve ark.2008). Bu modele göre bu toksinlerin RhoAGTPaz'ı inaktive ederek pirinin fosforillenmesini önlediği sonuç olarak, bu tür "serbest" pirinler, IL1 β salınmasına yol açan kaspaz-1- bağımlı bir enflamatuar içerisine katılabileceği ileri sürülmüştür.

Ser242 pirin (p.S242R)'nin bir yanlış mutasyon nedeniyle oluşan PAAND (Pyrin-Associated Autoinflammation with Neutrophilic Dermatitis) olarak adlandırılan bir kalıtsal hastalık bu durumun ispatı sayılabilir.

Fosforilasyonda ana bir rol içeren Ser242 mutasyonunun sebep olduğu mutant pirinin inflamsayonla karakterize ettiği hastalık bu etkenlerin inflamasyon oluşumundaki etkisinin açık bir kanıtı olarak sayılmıştır (Awadve ark. 2018)



Şekil 2.5. Pirinin aktivasyonu ve toksinler sebebiyle aktive olamamasının sonuçları (Awadve ark. 2018)

Pirinin transkripsiyonel faktörlerle benzerliği proteinin nükleer faktör olma ihtimalinin olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar alternatifspaysingle oluşturulan pirin dışındaki normal ve tam uzunluktaki pirinin stoplazmada lokalize olduğunu göstermiştir(Papin ve ark. 2000).

Stoplazmadaki pirinin hücre iskeletiyle ilişkisinin olup olmadığını açıklamak önemlidir. Çünkü kolşisin FMF tedavisinde kullanılır ve bu mikrotübüllerin polimerizasyonunu inhibe ederek lökositlerin yapışmasını ve hareketini azaltır. Yüksek konsantrasyondaki kolşisinpolimerizasyonu bloke eder ve mikrotübülleri bozar. Düşük konsantrasyonu ise polimer oluşumunu engellemez ancak mikrotübül uçlarında tübülün değişimini önler. Düşük dozlarda kolşisinendotel hücreleri ve nötrofillere üzerinde selektin dağılımını değiştirerek lökosit yapışmasına müdahale eder. Bu şekilde bir antiinflamatuvar etki göstererek hastalık semptomlarını önler. Pirinin hücre iskeleti ve aktinle olan ilişkisi

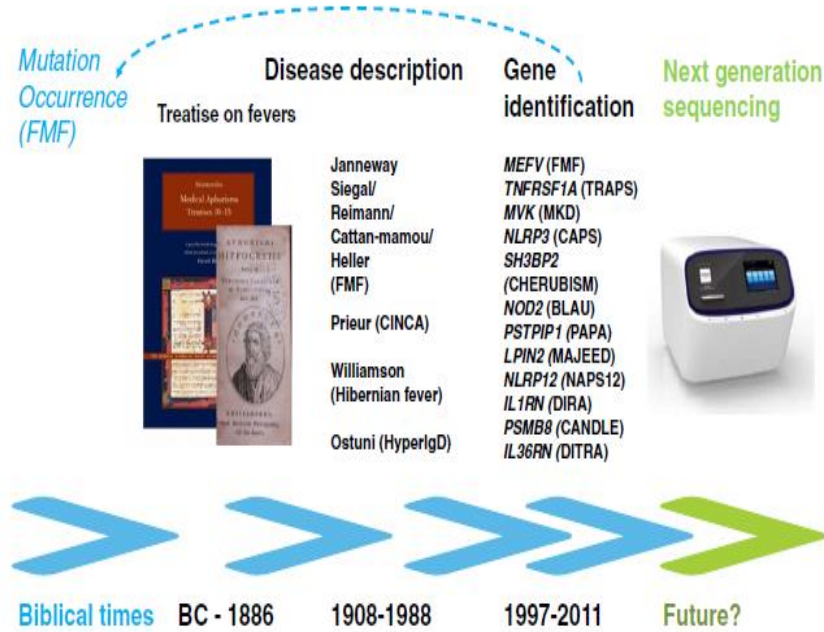
ortaya çıkarılmış ve hücre iskeleti ve sinyal yollarında kullanıldığı çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Mansfield ve ark. 2001).

Daha sonra pirinin PSTPIP1 proteini ile etkileşim gösterdiği bulunmuştur. Bu gen, hematopoetik dokularda yüksek oranda eksprese edilen bir hücre iskeleti proteinini kodlar. Gen ürünü protein, hücre iskeleti organizasyonu ve inflamatuvar süreçlerde yer alan birkaç farklı protein ile etkileşimi yoluyla işlev görür. PSTPIP1, hücre döngüsünün çoğu sırasında kortikalaktin ve lamellipodia ile birlikte bulunur ve sitokinez sırasında bölünme karışına geçer. PSTPIP1 aktinin regülasyonunda yer alır. T hücrelerinde immünolojik sinaps kompleksinin oluşumunda T hücrelerini aktin hücre iskeletiyle birleştirmede adaptör gibi görev görür. PSTPIP1 proteinin coiled-coil domaininde meydana gelen mutasyonların pyodermagangrenosumandacne (PAPA) otoinflamatuvar sendromuna yol açtığı gözlemlenmiştir. PAPA sendromunun kliniği FMF hastalığına benzerdir. Bu iki hastalığın arasındaki benzerlikler pirin ile PSTPIP1 arasındaki ilişkiyi açıklamada önemli olmuştur. Yapılan çalışmalarla Pirinin PSTPIP1'e bağlandığı, pirinin bağlanmasıyla, PSTPIP1'in tirozinfosforilasyonunu belirgin bir şekilde artırdığı tespit edilmiştir, Pirin ve PSTPIP1, hematopoetik hücrelerini sınırlı bir kısmında ifade edilir ve her ikisi de aktin hücre iskeleti ile birleşir. Pirin PSTPIP1 ile etkileşim alanını bulmak için B30.2 domaini olmayan proteinler üretilmiştir. Bu domain hastalık oluşturan mutasyonların sıkça görüldüğü domaindir. Ancak buna rağmen pirinin PSTPIP1'e bağlanmasında önemli bir azalma görülmemiştir (Shoham ve ark. 2003).

Pirinin ASC, mikrotübüller ve aktin filamentleri ile birlikte etki göstermesi aktin polimerizasyonunun inflamasyonla bağlantılı olabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar bu durumu ispatlamıştır. Aktin filamentlerinin aktin-depolimerize edici faktör kofilin ailesi ile bağlanması için Wdr1 gereklidir. Çalışmada Wdr1 mutasyona uğratarak inaktif hale getirilmiş ve aktin polimerizasyonu engellenerek inflamasyon oluşumu gözlenmiştir. Ancak bu oluşuma IL-1 β değil, IL-18' in yol açtığı görülmüştür. Yine de inflamasyonda aktinin rol aldığını kanıtlamak önemlidir (Kim ve ark. 2015).

2.2.Otoinflamatuvar Hastalıklar ve FMF

Bilinen adıyla AID'ler (autoinflammatory diseases) oto-immün hastalıklar olup periyodik ateş ile karakterizedir. *MEFV* geninin keşfi FMF hastalığıyla olan ilişkisi birçok AID hastalığı ve genini tanımlamada öncü olmuştur. Tekrarlayan ateşler uzun bir dönem boyunca çağın bilim insanları tarafından tespit edilmiş ve farklı isimlerle kayıt altında tutulmuştur. M.Ö 460 dolaylarında Hipokrat Aforizmalarında buna yer vermiştir. 865 yılında Muhammed ibn Zekeriya El Razi, ateşi; vücudun hastalıklar savunma biçiminin bir yansıması olarak tanımlamıştır. Yine Musa Ben Maimon 1100' lere periyodik ateşli hastalıklar üzerine incelemelerde bulunmuştur. 1500' lü yıllarda İspanyol GómezPereira doğal immüitenin modern bir tanımını vermiştir.1800' lü yıllarda ise Robert DyerLyonsinflamasyonla ateşin birlikte seyrettiğini eserlerinde vurgulamıştır. Bu uzun süreç oto-immün hastalıkların günümüzdeki bilinirliğini artırmak açısından köşe taşları konumunda olmuştur. Zamanla bilimdeki gelişmeler sayesinde bu sendromlara sebep olan mutasyonlar tespit edilmiş artık tedavi yaklaşıkları üzerinde gelişmeler sağlanmaya başlamıştır. Şekil 2.6.'da hastalıkların tanınması ve geliştirilen yollar gösterilmiştir.



Şekil 2.6.Oto-immün hastalıkların uzun çağlar boyunca tanımlanması, genlerinin keşfi ve gelecek(Touitou 2012).

Oto-immün hastalıklardan ilk tanımlanan gen FMF hastalığına ait *MEFV* geni olmuştur. Daha sonra bu gen yapısı ile domainlerinin fonksiyonlarının keşfi diğer gen kümeleri ve hastalıkların keşfini kolaylaştırmıştır. Çizelge 2.1.' de gösterildiği üzere keşfedilen oto-immün hastalıklar arasında ilk sırada FMF hastalığı bulunur.

Çizelge 2.1.Oto-immün hastalıklar, keşfedildiği yıllar ve ilgili gen ailesi(Touitou 2012).

Yıllar	Hastalık	İlgili Gen
1997	FMF	<i>MEFV</i>
1999	TRAPS	<i>TNFRSF1A</i>
1999	MKD	<i>MVK</i>
2001	CAPS	<i>NLRP3</i>
2001	Cherubism	<i>SH3BP2</i>
2001	Blau sendromu	<i>NOD2</i>
2002	PAPA	<i>PSTPIP1</i>
2005	Majeed sendromu	<i>LPIN2</i>
2008	NAPS12	<i>NLRP12</i>
2009	DIRA	<i>IL1RN</i>
2010	JMP/NNS/CANDLE	<i>PSMB8</i>
2011	DITRA	<i>IL36RN</i>

*FMF: familialMediterraneanfever; TRAPS: TNF receptorassociatedperiodicsyndrome; MKD: mevalonatekinasedeficiency; CAPS: cryopyrinassociatedperiodicsyndrome; PAPA: pyogenicarthritispyodermagangrenosumandacne; NAPS12: NLRP12 associatedperiodicsyndrome; DIRA: deficiency of interleukin 1 receptor antagonist; JMP: jointcontractures, muscletrophy, microcyticanemia, andpanniculitis-inducedlipodystrophy; NNS: Nakajo–Nishimurasyndrome; CANDLE: chronicatypicalneutrophilicdermatosiswithlipodystrophyandelevatedtemperature;DITRA: deficiency of interleukin 36 receptor antagonist

2.3 FMF Hastalığının Epidemiyolojisi

MEFV geni mutasyonları otoimmün hastalıkların en bilinenlerinden biri olan FMF hastalığına sebep olur. FMF hastalığının dünya coğrafyasına yayılması, prevelansı ve etkili olan mutasyonları popülasyonlar arasında farklılık gösterir.

FMF hastalığı çoğunlukla Türklerde, Ermenilerde, Araplarda, Aşkenazi olmayan Yahudilerde görülür. Buna rağmen bu popülasyonlar dışında da gözlemlenmiştir.

FMF' li hastalara Fransa, Almanya, İtalya, İspanya gibi Avrupa ülkelerinde ve ABD ve Avustralya gibi kıtalarda da rastlanmıştır. Türkiye muhtemelen dünyadaki en yüksek FMF prevelansına sahip ülkedir. Prevelansı 1:400 ile 1:1000 arasında değişir. İsrail'de ise bu prevelans 1:1000' in üzerindedir. Bu da yaklaşık 7 milyon nüfuslu İsrail'de yaklaşık 10.000 FMF hastasının varlığına işaret eder. Ermenistan'da 1:500 ile FMF prevelansının yüksek olduğu ülkelerden biridir. Yaklaşık 3 milyon nüfusuyla 6000 kadar hastanın bulunduğunu gösterir. Ürdün, Suriye ve Lübnan gibi Ortadoğu ülkelerinde de FMF hastalığı yaygındır. Ancak burada sıklığı tam olarak tespit edilememiştir.

Bunlara ilaveten Kuzey Afrika ülkelerinde Yunanistan, Girit, Almanya gibi ülkelerde de gözlenmiştir. Japonya'da da FMF hastalığına rastlanmıştır. Son zamanlarda çıkan yayınlarda Japonya'da FMF' in artık nadir bir hastalık olmadığı ortaya konulmuştur(Migitave ark. 2016). Hastalığın Japonya'da görülmesi ilginçtir. Kabul edilen hipoteze göre İpek Yolu'nun Behçet Hastalığında olduğu gibi FMF hastalığının da yayılmasını sağlamıştır (Ben Chetrit ve Touitou2009). Şekil 2.7.' de FMF' in dünya üzerinde yayılmasını ve izlediği tahmini yollar gösterilmiştir.



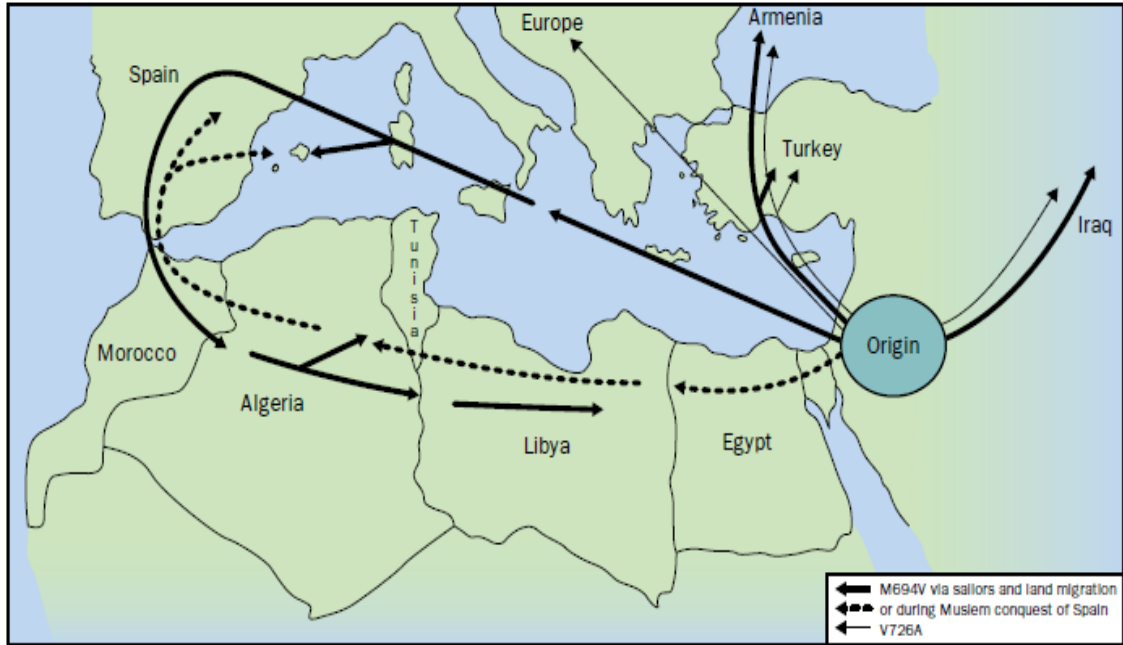
Şekil 2.7. FMF' in dünyaya yayılması (Ben Chetrit ve Touitou2009)

FMF görüldüğü coğrafyaların dışında bu hastalığın görülmediği bölgelerde vardır. Bunlar Uzakdoğu ülkeleri, Etiyopya, İskandinavya, Yemen, Hindistan, Tayland ve Sahra

Altı Afrika'dır(Ben Chetrit ve Touitou 2009). Hastalığın dünyaya bu denli yayılması Akdeniz havzasındaki göç kalıplarıyla ilgili olabilir (Petrushkin ve ark. 2016).

Yahudi hastaların %90'dan fazlası Sefarad ve Ortadoğu kökenlidir. Sefarad Yahudiler 15.yüzyılda İspanya'yı terk etmek zorunda kalmışlardır ve çeşitli Kuzey Afrika ve Akdeniz ülkelerine dağılmışlardır. Ortadoğu Yahudileri ise yaklaşık 2500 yıl önce Mezapotomya'yaBabil'liler tarafından göç ettirilen Yahudilerin torunlarıdır. Aşkenazi Yahudileri Avrupa kökenlidir. Yaklaşık 2000 yıl önce Romalılar tarafından Judea'dan çıkarılmıştır.

MEFV geninin keşfi ile yeni mutasyonların keşfi ile farklı etnik gruplarda bu mutasyonların dağılımını gözlemlemeye olanak sağlamıştır. M694V mutasyonu Irak Yahudileri, Kuzey Afrika Yahudileri ve Ermenilerde görülürken; V726A ise Irak Yahudileri, Aşkenazi olmayan Yahudiler, Dürziler ve Ermeniler arasında yaygındır. Bu iki mutasyon çok eskidir ve muhtemelen 2500 yıl önce Ortadoğu'dan Dünyaya yayılmıştır. Şekil 2.8. yaygın olan bu iki mutasyonun orijininin ve yayılma yönlerinin tahmini bir haritası gösterilmiştir (Ben Chetrit veLevy 1998).



Şekil 2.8. FMF sebep olan *MEFV* geninin yaygın iki mutasyonu olan M694V ile V726 allellerinin dünyaya coğrafyasına yayılması (Ben Chetrit ve Levy 1998)

Ermenistan'ın Türkiye ile kara sınırının olması hastalığın coğrafyalar arasındaki yayılmasını etkilemiştir. Hatta Hazar bölgesindeki Türklerin 8. yy. Yahudiliği kabulüyle mutasyonun Kafkas bölgelerine yayılımını artmıştır.

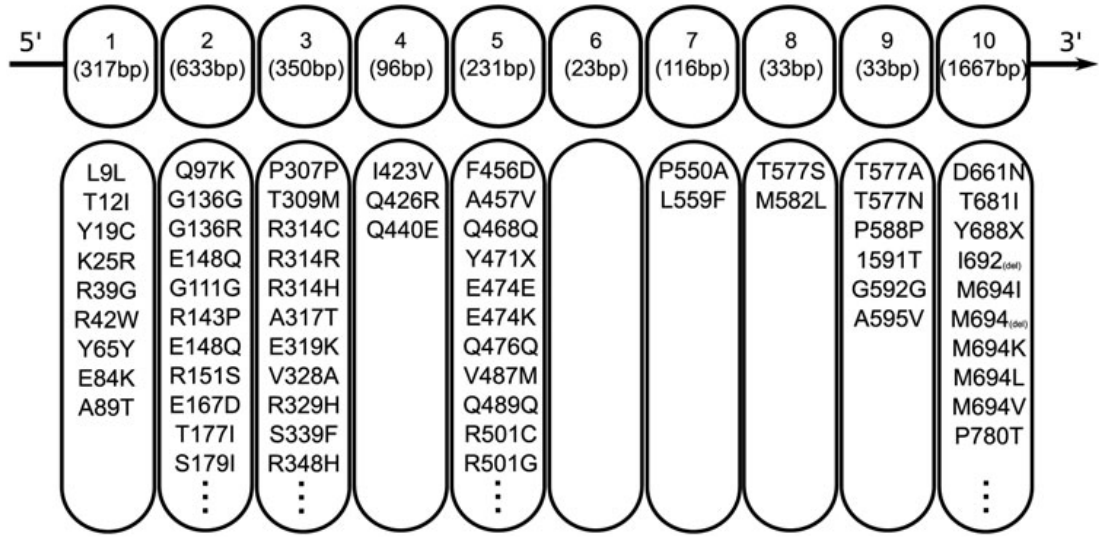
Fransa'daki FMF hastalarının çoğu Kuzey Afrika ve Almanya'da yaşayanların çoğu Türk kökenlidir. İtalya'daki FMF hastalarının çoğu, yarımadanın orta ve güney bölgelerinde yer almaktadır. Kökenleri muhtemelen deniz yoluyla gelen Yunanlılar, Türkler ve Fenikelilerden oluşmuştur. FMF, eski dünyanın yeni kıtaya taşınmasıyla da ABD'ye kadar yayılmıştır.

2.3.1. Türkiye' de FMF prevelansı

Türkiye eksenli çalışmalar FMF' in prevelansının 1:1000 olduğunu göstermiştir. 1990'larda yapılan köken çalışmalarıyla hastalığın çoğunlukla Karadeniz bölgesinden kökenlendiği Akdeniz kesimlerinden köken almadığı görülmüştür. Ayrıca Orta Anadolu' da iki şehir olan Sivas ve Tokat'ın prevelans değerleri 3:1000, 8:1000 olduğu görülmüştür. Türkiye'nin kuzeybatısında yapılan çalışmalar da ise prevelans değeri çok düşüktür. 6: 10.000 prevelansla bu değer Türkiye ortalamasının altındadır (Ozdoğan ve Uğurlu 2019). FMF %70' i Doğu ve Karadeniz kökenlidir. %24' ü ise İç Anadolu ve çok düşük bir kısmı Ege bölgesindedir (Çobankara ve Balkarlı 2011). Bu durum Türkiye gibi yüksek prevelansların görüldüğü ülkelerde bile dağılımın homojen değil heterojenik şekilde olduğunu göstermiştir. Bu durum coğrafi konumu nedeniyle çeşitli ırkların kesişip kaynaştığı Anadolu için ilginç bir sonuç olmamıştır.

2.4.Genotip/FenotipKolerasyonları

'Infevers' ağı aracılığıyla, tanımlanan *MEFV* varyantlarının sayısını kontrol etmek mümkündür. Bugüne kadar, hastalıktan sorumlu olduğu düşünülen yada gen üzerinde bulunan 342 *MEFV* mutasyonu bulunmuştur. Şekil 2.9'da ekzonlarda sıkça görülen bazı mutasyonlar gösterilmiştir.



Şekil 2.9.MEFV geni ekzonları (1-10) ve bu ekzonlarda görülen bazı mutasyonlar (Petrushkinve ark.2016)

Hastalığın genotipiyle ortaya çıkan semptomların arasındaki ilişki ilk zamanlardan itibaren araştırılmıştır. *MEFV* geninin keşfinden sonra tespit edilen 3 çeşit varyantın fenotiple olan ilişkisi ilk yapılan çalışmalardandır. M680I, M694V ve V726A mutasyonları genle birlikte bulunan varyantlar olup bu varyantların hastalık fenotipleriyle olan ilişkisinin araştırılması kolerasyon çalışmaları için öncü olmuştur (The International FMF Consortium 1997). FMF hastalığının bireyler arasında gösterdiği etki değişkendir. Kuzey Afrika Yahudilerinde Iraklı Yahudilere göre daha şiddetli görülen bu hastalık genotip analizleriyle de karşılaştırılınca, FMF'in şiddetli seyrinin, Kuzey Afrika hastalarının yaklaşık %94'ünde bulunan mutasyon olan M694V için homozigotlukla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. M694V homozigotlarında, atıklar daha erken yaşta başlar ve daha sıktır. Bununla birlikte tedavi için kullanılan kolşisindozuda daha fazladır. Ayrıca, M694V için homozigot olan FMF hastalarının büyük kısmında amiloidoz tespit edilmiştir. Ancak bu durum mutasyon için heterozigot olan veya V726A mutasyonunu taşıyan hastalarda tespit edilmemiştir (Ben-Chetrit ve Levy 1998). Amiloidoz ile yapılan araştırmalar riskin temel olarak 2 faktör altındaki sebeplerden temellendiğini göstermiştir.

- 1) genetik faktörler
- 2) genetik olmayan faktörler

- Genetik risk faktörleri: iki grupta incelenirse *MEFV* genine bağlı olanlar ve modifiye edici genlere bağlı faktörlerdir. Bunlar *SAA* (*Seroamilloid A*) geni ve *MICA* (majör Histocompatibility Complex class 1 chain-related A) genidir.

M694V mutasyonun heterozigot ve homozigot hali esas olarak en büyük risk faktörüdür. Ama sadece bu mutasyonda değil M694I, M680I ve S179I gibi farklı mutasyonlara sahip olan hastalarda da bu durum bildirilmiştir. Buna karşılık düşük amiloidoz insidansı ile alakalı da V726A mutasyonu bildirilmiştir. *SAA* α/α genotipli hastalarda yapılan bir çalışmada buna sahip olanların *SAA* genotipli hastalardan 7 kat daha fazla amiloidoz geliştirdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca *MICA-A9* birlikteliği şiddetli bir fenotiple karakterizeyken *MICA-A4* hafif seyirli bir hastalık formuyla ilişkilidir.

- Genetik olmayan risk faktörleri: Cinsiyet yaşanan coğrafya gibi etmenler bu farklılığın sebebidir. Örneğin erkekler kadınlardan dört kat daha yüksek risk faktörü altındadır. Ayrıca ABD'de ikamet eden Ermenilerin, Ermenistan'da ikamet edenlere kıyasla daha az amiloidoz insidansına sahip olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda genel olarak M694V mutasyonu ile hastalığın daha şiddetli bir fenotipi arasında doğrudan bir bağ var olduğu gözlemlenmiştir. M680I hakkında genel bir görüş birliği yoktur. E148Q ve V726A'ya gelince, bu mutasyonları tek bir allel olarak gösteren hastalar bunları kompleks bir allel halinde gösteren hastalar arasında farklılıklar bulunmuştur. E148Q rolü hakkında ortak bir görüş yoktur. Bazı çalışmalar bu varyantı patojenik olarak kabul ederken bazıları iyi huylu bir polimorfizm olarak göstermiştir.

MEFV geni, 10 ekzondan oluşur ve çoğu hasta, bu gendeki en uzun ekzon olan ekzon 10'da mutasyonlara sahiptir.

Farklı bireylerde, hastalık farklı şekilde ortaya çıkabilir veya hastanın ömrü boyunca seyirini değiştirebilir. Benzer şekilde, çeşitli etnik kökenli popülasyonlar arasında FMF'in farklı tezahürleri gözlenmiştir. Çizelge 2.2.'de hastalığın belirli semptomlarının

çeşitli popülasyonlarda dağılımı gösterilmiştir. Hasta sayısı ve yüzdeler çeşitli çalışmalar referans alınarak hazırlanmıştır(Ben ChetritveTouitou2009).

Çizelge 2.2. Çeşitli çalışmalarda popülasyonların FMF semptomları arasında gösterdiği farklılıklar

	Ermenistan	Türkiye	İsrail	Araplar	İtalya	Girit	Japonya
Hasta sayısı	335	2838	576	175	71	71	80
Ateş%	94	92	100	100	92	80	98
Peritonit%	91	93	96	93	91	76	55
Plörit%	84	31	43	32	52	21	61
Artrit%	39	47	70	33	63	38	27
Deri Döküntüsü%	15	21	40	3	22	11	10

Bu popülasyonlarda farklı semptom gözlenmesindeki en önemli faktör genetik farklılıklardır. Buna rağmen çevresel birtakım faktörlerde bu durum üzerinde etkilidir. Amiloidoz riski bu durumu açıklamada önemli bir örnektir. Uzun süre önce Ermenistan'da yaşayan Ermeni FMF hastalarında, amiloidoz prevalansının ABD'de yaşayan Ermeni FMF hastalarına göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Türk hastalarda benzer sonuçlar bildirilmiştir. Özellikle Türkiye'de yaşayan FMF hastalarında hastalığın görülme riski, Almanya'da yaşayan Türk FMF hastalarındakinden çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun sebebi olarak kolşisinin kullanılabilirliğinin bu ülkelerde daha az olması olarak gösterilmiştir. Bu durumla bebek ölümleri arasında da bir orantı vardır. Sonuç olarak mevcut sağlık politikası hastalığın seyrini etkileyen bir çevresel faktör oluştur. Buna rağmen fenotip üzerindeki farklılıklara sebep olan en önemli etken genotip farklılığıdır (Ben-Chetrit ve Touitou 2009). Bu farklılığı sağlayan şey *MEFV* geninin popülasyonlara göre farklı varyantlar içermesidir. Çizelge 2.3.' te ırklara göre en çok görülen varyantlar gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Çeşitli ülke ve ırklara göre en çok gözlenen *MEFV* varyantları (Ben-Chetrit veTouitou 2009)

İsrail Kuzey Afrika Yahudileri: p.694V, p.E148Q Irak Yahudileri: p.726A, p.694V, p.E148Q, p.M680I Aşkenazi Yahudileri: p.E148Q, p.V726A
Orta Doğu Araplar: p.V726A, p.M680I, p.M694V, p.M694I, p.E148Q
Türkiye Türkler: p.M694V, p.M680I, p.V726A, p.E148Q
Ermenistan Ermeniler: p.M694V, p.M680I, p.V726A, p.E148Q
Japonya Japonlar: p.M694I, p.L110P, pE148Q, p.R761H, p.E84

2.5.Türk Popülasyonunda Yaygın Olarak Görülen Alleller

Türkiye gerek genin dağılım yolları üzerinde olması gerekse mozaik nüfus yapısı ile orantılı olarak hastalık bakımından önemli çalışmalar yapılan ülkelerdendir. Çizelge2.4.'te Türk popülasyonunda en sık rastlanan varyantlar gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar Türkiye' de en sık rastlanan varyantın M694V olduğunu göstermiştir. Bunu takip eden diğer varyant ise E148Q varyantıdır. Diğer varyantlar arasında frekansı dağılımı bölgelere göre değişkenlik göstermiştir. Örneğin; Akdeniz bölgesinde M694V, E148Q, M680I varyantları en çok tespit edilen varyantlar olmuştur. Orta Anadolu popülasyonunda E148Q, M680I ve V726A varyantları yaygınken Ege ve Türkiye'nin güneydoğusundaki bölgelerde M694V ve E148Q, V726A varyantının frekansının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Ozdemir ve ark. 2010).

Çizelge 2.4. Türkiye’ de Bölgesel Olarak En Sık Görülen *MEFV* Varyantları

Çalışılan Bölgeler	Sırayla Sık Görülen Varyantlar (soldan sağa en sık görülen)				
Kırıkkale	M694 V	E148Q	M680I (G/C)	V726 A	Diğer varyantlar
Ege	M694 V	E148Q	V726 A	M680I (G/C)	Diğer varyantlar
Diyarbakır	M694 V	E148Q	V726 A	M680I (G/C)	Diğer varyantlar
TFK	M694 V	M680I(G/C)	V726 A	Diğer varyantlar	
GATA	M694 V	M680I(G/C)	V726 A	E148 Q	Diğer varyantlar
Karadeniz	M694 V	M680I(G/C)	V726 A	E148 Q	Diğer varyantlar

Yapılan çalışmalar Türk toplumunun taşıyıcılığı hakkında da bilgiler vermiştir. Sağlıklı Türk popülasyonunda taşıyıcılık oranı yaklaşık %20’dir. Yaygın görülen varyantlar sırası ile E148Q, M680I, M694V, V726A, M694I’dır. Bu sonuçlar şaşırtıcıdır çünkü hasta bireylerde görülen varyantların frekansları böyle değildir. Hastalar da görülen en sık varyantlar ise sırası ile: M694V, M680I, V726A, E148Q ve M694I’dır (Yılmaz ve ark. 2001).

2.6. FMF Hastalığının Tanısı

FMF’i tanısal kriterleri hastalığın periyodik ateşli hastalıklar ve diğer otoinflamatuar örneklerinden ayrılmasına yarar. Klinik olarak FMF benzeyen bazı hastalıklar Hiper Ig D Sendromu (HIDS), Familial Hibernian Fever (FHF), Periyodik Ateş, Aftöz Stomatit, Farenjit, Adenopati Sendromu (PFAPA) ve Behçet Hastalığı (BH)’dır. Hastalığın tanısının koyulması bu yüzden büyük önem taşır. Hem benzer hastalıklardan ayırt edilmesi hem de tedavisinin daha etkin olmasını sağlar. Klinik olarak FMF yüksek ateşle karakterize bir hastalıktır ancak tanıdaki tek tespit bu yönde değildir. Ateş ataklar

boyunca devam eder ve ateşle birlikte dayanılmaz karın, göğüs ve eklem ağrıları gelişir. Ataklar düzensiz olarak gelişir.

Bununla birlikte atakları tetikleyen bazı çevresel faktörler olduğu tespit edilmiştir. Kemoterapi, adet döngüsü ve Helicobacter pylori (HP) varlığının tespit edilmesi FMF atakları üzerinde olumsuz etkilidir. Hormonal olarak östrojen IL-1 tarafından indüklenen IL-6 üretimini inhibe eder ayrıca tedavide kullanılan kolşisinleyarışarakmikrotübüllere bağlanır ve tedavinin etkinliğini düşürür (Fonnesu ve ark.2009). Ataklar genellikle çocukluk ve ilk erginlik döneminde ortaya çıkar, ilerleyen yaşlarda atakların ortaya çıkması çok gözlenen bir durum değildir.

Ayrıca bazı çalışmalar cinsiyeti ataklar için bir faktör olarak değerlendirmiştir ve erkeklerde bu oranın daha yüksek olduğu sonucuna varsa da Türk toplumunda birbirine hemen hemen eşit değerler gözlemlenmiştir.

FMF hastalığında atak süresince birtakım değerlerde değişiklikler saptanmıştır. Bunlar; C-Reaktif Protein (CRP) ve serum amiloid A (SAA) gibi akut faz reaktanlarıdır. Akut yanıtta sorumlu sitokinler üzerine yapılan araştırmalarda Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α) ve İnterlökin (IL)-2, IL-6, IL-8 düzeylerinde artışlar tespit edilmiştir. Ancak atak dönemi olmasa da hastalarda yapılan çalışmalar CRP seviyesinin normalinden yüksek olduğunu ortaya koymuştur. FMF hastalığının inflamatuvar yanıtta problemlerden kaynaklandığı düşünülürse bu reaktanlardaki artışın da sebebi kısmen de olsa anlaşılabilir. FMF’ de lokal olarak yedi nöbet tipi vardır. Bu nöbetlere yüksek ataş eşlik eder. Ataklar ve ateş yaklaşık 12-72 saat sürer. Çizelge 2.5.’te atakların en sık görüldüğü yerler ve ana özellikleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.5.FMF atak tipleri ve lokalizasyonları(Koşan 2003)

ATAKTİPİ	ANA ÖZELLİK	EN SIK LOKALİZASYON
Abdominal	Peritonitis	Generalize
Eklem	Monoartrit	Alt ekstremitede büyük eklemler
Göğüs	Plöritperikardit	Tek taraflı
Scrotal	Vaginalitis	Tek taraflı
Adele	Miyalji	Bir veya birkaç kas grubu
Cilt	Erizipeloid	Baldır ve incik

FMF' de yaygın görülen iki fenotip vardır. Fenotip 1 tipik bir FMF hastasının göstereceği kriterleri taşır. Ateş, eklemde ve karında şiddetli ağrı gibi tipik bulgular içerir. Fenotip 2 ise AA amiloidozlu bulgular gösteren fenotiptir. Amiloidozis, anormal şekilde katlanmış amiloid proteinlerin vücudun çeşitli organ ve dokularında ekstraselüler alanda fibriller şekilde birikmesi ile ortaya çıkan kronik bir hastalıktır. FMF hastalarında amiloidozis kendisini başlıca nefropati ile gösterir.

FMF tanısının daha spesifik ve daha kolay yapılabilmesi için çeşitli gruplar tanı kriterleri geliştirmiştir (Çobankara ve Balkarlı 2011).

Bunlar arasında en çok kullanılanı ve Tel-Hashomer kriterleridir. (Kone-Paut ve ark. 2011). Buna göre iki sınıf kriter oluşturulmuştur;

- Majör kriterler

1. Peritonit, plörit veya sinovitin eşlik ettiği ateşli epizodlar
2. Yatıklaştırıcı bir hastalık olmaksızın, AA tipi amiloidoz
3. Devamlı kolşisin tedavisine anlamlı yanıt

- Minör kriterler

1. Tekrarlayan ateşli ataklar
2. Erizipel benzeri eritem
3. Birinci derece akrabalarda AAA öyküsü

FMF tanısı koyabilmek için 2 majör kriter ya da 1 majör ve 2 minör kriter olmalı. Olası tanı için ise 1 majör kriterle birlikte 1 minör kriter olmalıdır (Ugan ve ark. 2011).

2.7. FMF Hastalığının Tedavisi

2.7.1. Kolşisinle tedavi

Kolşisinle tedavi yaklaşık 1972' den beri kullanılmaktadır. 1974 yılında Zemer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar kolşisinin etkinliğini göstermiştir (Zemer ve ark. 1974). Metafazdamikrotübül sistemini bozar ve nötrofilkemotaksisini önler (Çobankara

ve Balkarlı 2011). Bu şekilde inflamasyonun önüne geçer. Etkinliği tespit ve kabul edilen kolşisin çocuklar içinde güvenle kullanılabilir bir ilaçtır(Hashkesve ark.2012).

Kolşisin çocuklarda gelişimi engellemez. Kolşisin tedavisiyle atakları kontrol altına alınan çocuklarda gelişim hızı artar (Ben-Chetrit ve Touitou 2009).

2.7.2. IL-1 inhibitörleri ve biyolojik ajanlar

Günümüzde etkisini kolşisin gibi gösteren tedaviler bulunamasa da birkaç yaklaşım geliştirilmiştir.

- Anakinra IL-1 reseptör inhibitörüdür ve IL-1 α ve IL-1 β 'nin reseptörüne yarışarak bağlanmasıyla inhibe eder.Çoğu M694V homozigot hastalar olmak üzere birçok deneme gerçekleştirilmiştir (Petrushkin ve ark. 2016).
- Rilonacept'in IL-1 α ve IL-1 β afinitesi daha yüksektir. IL-1 reseptöre bağlanıp sinyal vermesini azaltır. Endojen hücre yüzeyi reseptörlerini aralarındaki bağlantıyı yok ederek etkisiz hale getirir.(Hashkes ve ark. 2012)
- Canakinumab ise diğer iki ajana göre daha spesifik çalışır. Bu IL-1 β için oldukça spesifiktir. Ayrıca yarılanma ömrü daha uzun olduğundan dönemsel uygulamalara izin verir. FMF'li çocuk hastalarda yapılan çalışmalar bu tedavinin kullanılabilir olduğunu göstermiştir(Mitroulisve ark).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Varyantların Tespiti

3.1.1. Örnek materyaller

Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine FMF hastalığının semptomlarıyla başvuran hastalardan elde edilen materyallerle gerçekleştirilmiştir. 673 kadın, 841' i erkek olmak üzere 1514 hastadan alınan örneklerle çalışılmıştır.

Çalışmada kan alımı ve DNA izolasyonu ile ham verinin işlenmesi hastane laboratuvarı tarafından sağlanmıştır.

3.1.2. DNA izolasyonu ve yeni nesil dizileme

Başvuru yapan hastalardan önceperiferik kan alımı gerçekleştirilmiştir.

Daha sonra bu kandan QIAGEN Kan izolasyonu kiti kullanılarak DNA izolasyonu üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. (<https://www.qiagen.com>)

DNA izolasyonundan sonra *MEFV* geninin tüm ekzonları FMF MASTR DxAssay Kitinde iki multipleks primer karışımı kullanılarak çoğaltılmıştır. (<https://www.agilent.com › product › multiplicom>)

Elde edilen ampliconlar Illumina NGS sistemleri kiti için drMIDDx kullanılarak barkotlanmış ve sonunda ortaya çıkan amplicon kütüphaneleri, Illumina MiSeq® cihazı kullanılarak bir araya getirilmiş ve dizilenmiştir.

3.1.3. Ham verinin işlenmesi

Ham verilerin işlenmesinde SOPHiADDM analiz programı kullanılmıştır. Bu platform genomik verilerin görselleştirilip yorumlanmasını sağlamak için bir araya getiren bir analiz programıdır.

Programa önce elde edilen DNA dizileri yüklenir. Sistem gelişmiş algoritmalarıyla yüksek doğrulukta genomik analiz sağlar.

Program varyantları ACMG kriterleri doğrultusunda patojenitesine göre çeşitli sınıflandırmakla birlikte her hasta için ayrı ayrı analiz dosyası vererek bunlar üzerinde çalışılma imkanı sağlar. Bu sayede hastaneye FMF semptomlarıyla gelen hastalarda

bu hastalığın geni olan *MEFV* geninden kaynaklı mutasyonlar olup olmadığı ve mutasyon varsa elde edilen varyantların patojenitesi hakkında bilgi verir.

Ayrıca sisteme yüklenen varyantlar veritabanına kaydedilerek Dünyanın neresinde olursa olsun diğer kullanıcılar için de bir kaynak haline gelir ve analizlerde kullanılır.

Sonuçta çalışmanın temeli olacak tüm veriler SOPHiA DDM programıyla işlenir ve çeşitli sınıflandırmalarla kullanılacak hale getirilir.

3.2.Genotip Dosyasının Oluşturulması

SOPHiA DDM analiz programı yardımıyla işlenen veriler kullanılarak her hasta için ayrı ayrı oluşturulan dosyalar üzerinde çalışılmıştır. Bu dosyalarda FMF hastalığı şüphesi olan hastalar için var olan varyantlar, allel değişimleri, bu değişimlerde referans allel denilen wild-typeallel ve alternatif allel olarak isimlendirilen değişen allel, mutasyon türü, aminoasit değişimi, değişimin hangi lokalizasyonda gerçekleştiği, varyant yüzdeleri gibi çeşitli kriterler sunulmuştur.

Öncelikle 1514 hasta için bu dosyalar SOPHiA DDM analiz programından tek tek excell formatına uygun indirilmiştir.

Elde edilen dosyaların hepsi kullanılarak tek bir genotip dosyası oluşturulmuştur.

Bu dosya analizler sonucunda bulunan her varyant ve her bir hastanın da hangi varyantları gösterdiği tespit edilerek oluşturulmuştur. Ayrıca hastaların gösterdiği bu varyantları homozigot olarak mı heterozigot olarak mı taşıdığı tespit edilmiştir.

Bir allelinhomozigot mu heterozigot mu olduğunu anlamak için varyant percentage denilen varyant yüzdeleri kullanılmıştır. Buna göre %75 ve üzeri yüzdeye sahip olanlar homozigot altında değere sahip olanlar heterozigot olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca bazı hastalarda birtakım varyantların yüzdeleri çok düşük değerler göstermiştir. Çalışmanın spesifikliğı açısından %35 ' in altında değer gösteren varyantlar çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Genotip dosyasını tamamlanırken hastalarda gösterilmemiş varyantlar referans allelinhomozigot haliyle tamamlanmıştır.

3.3.Biyoinformatik Analizler

3.3.1. Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan veri tabanları

3.3.1.1.Infevers

Otoinflamatuvar hastalıklar bağışıklık sisteminde doğuştan gelen hatalar sebebiyle ortaya çıkan hastalık grubudur. Bu grubun en bilinenleri kalıtsal tekrarlayan ateşler (HRF)'lerdir. Bu genetik hastalıkları tanımlanmasında yapılan testlerin yorumlanması kimi zaman zor olabilir. Çünkü belirli bir varyant üzerinden yapılan tanımlamalar beklenmeyen varyantlar ortaya çıktığında yetersiz kalır. Bu şekilde meydana gelen çok çeşitli varyantları içeren hastalık gruplarında bulunan ve bilinen tüm varyantların birleştirildiği bir veri tabanları değerlidir. Infevers bu açığı kapatıp dünya çapında varyantlara bilinirlik kazandırmıştır. Sadece varyantların toplanmasını değil fenotip üzerindeki etkilerini lokasyonlarını, HGVS isimlendirmeleri gibi birçok kapsamlı sınıflandırmaları içerir. Bu veri tabanında hâlihazırda *MEFV* geni açısından 365 varyant tespit edilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen varyantlar Infevers veri tabanıyla karşılaştırılarak bulunan varyantın yaygın bir varyant olup olmadığı araştırılır (Van Gijn ve ark. 2018)(<https://infevers.umai-montpellier.fr/web/>)

3.3.1.1 SIFT

Bu veri tabanı non-synonymous single nucleotide polymorphism (nsSNP)'lerin protein fonksiyonuna etkisini tahmin etmek için sekans homolojisi kullanan bir veri tabanıdır. Hastalığa sebep olan mutasyonlar işlevsel bölgelerde ortaya çıkmaya eğilimlidir. Bu alanlar arasında polimorfizm bölgeleri de bulunur. İnsanların birbirinden farklı 14.000 ve 25.000 arasında aminoasit içerdiği tahmin edilir. Bunların içinden de birtakım hastalıklarla ilişkili olabilecek mutasyonlarının meydana gelmesi doğaldır. Bunların bu çerçevede değerlendirilerek sınıflandırılmasını yapmak her insan için zor olsa da bu şekilde tahmin aracıyla geliştirilmiştir Aminoasit değişimlerinin zararlı olup olmadığını anlayıp fenotipteki etkisini tahmini olarak göstermeye yarar (Ng ve Henikoff2001).

Bunun için çeşitli tanımlamalar kullanır. FASTA sekansında dizi girişi yapılır. SIFT ilgili sekanslar için veri tabanlarını arar. Bir dizi hizalaması oluşturur. SIFT her pozisyon için olasılıkları hesaplar ve tahminlerde bulunur. Sonuç olarak Tolerated ve Deleterious olarak iki varsayım getirir. İlk sonuç değişimin fenotipte tolere

dilebileceğini ikinci sonuç ise sonucun tolere edilmeyeceğini ve zararlı olduğunu gösterir (Kumar ve ark. 2009)(<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>).

3.3.2. Protein sınıflandırmasında kullanılan veri tabanları

3.3.1.2. MutationTaster

Varsome varyantları biriktirerek bunların sınıflandırılmasını özelliklerinin bir arada bulunacağı biyoinformatik veri tabanıdır. Varsome içinde varyantları sınıflandırılması birde MutationTaster *insilico* tahmin aracıyla yapılır. Buna göre varyantlar, evrimsel korunumlarına, protein ve düzenleyici özelliklerine göre sınıflandırarak patojen olup olmadığı hakkında tahminlerde bulunulur. Sonuçta varyantlar hakkında 4 olası sonucu işaret eder (<https://varsome.com/>)

- diseasecausing: hastalığa neden olan
- diseasecausingautomatic: Otomatik olarak hastalığa sebep olan
- polymorphism: Muhtemelen zararsız
- polymorphismautomatic: Otomatik olarak zararsız

3.3.1.3. Polyphen

Polyphen 2 *insilico* tahmin sitesi yanlış anlamlı mutasyonların tehlikeli olup olmadığı hakkında bilgi sunar. Bir mutasyonu, iyi huylu (benign), zararlı olabilir (possiblydamaging) veya muhtemelen zararlı(probablydamaging) olarak sınıflandırır (Adzhubei ve ark. 2010). Bu sayede SNP'lerin fonksiyonel etkilerini göstermeye yarar (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>).

Bunun için önce FASTA formatında dizi girilir. Daha sonra wild-type aminoasit, mutant aminoasit ve değişimin hangi pozisyonda olduğu girilir. Buna göre elde edilen sonuçlar tahmini etkilerine göre yukarıda bahsedilen 3 etki altında toplanır (Adzhubei ve ark. 2013).

3.3.1.4. RegulomeDB

Gen dizilime yapılmaya başlandığından itibaren hastalıklı ve sağlıklı fenotipler tespit edilmiş bunların arasındaki farklar protein kodlayan genlerdeki değişikliklerle tespit edilmeye çalışılmıştır. Oysa bazı varyasyonlar bunları dışında meydana gelmektedir. Bu zararı gidermek için genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) yapılarak bu bölgelerdeki varyasyonlar tespit edilmektedir. İnsan genomundaki regülatörlerintespiti araştırılması ve yorumlanmasında RegulomeDB veri tabanı kullanılır. RegulomeDB tespit ettiği fonksiyonları skorlarla niceliksel hale getirir (<http://www.regulomedb.org/>).

Toplamda 14 skoru ve bunlarında kendine göre anlamları mevcuttur. Çizelge 3.1.'de skorlar ve ifade ettiği anlamlar gösterilmiştir. Sınıflandırma sisteminde fonksiyonel bir yerde bulunduğu ve işlevsel olup olmasına göre numaralandırma yapılır. Fonksiyonel olarak belirleme yapmak için;

- Regülasyon dâhil olmak üzere deneysel olarak karakterize edilmiş bölgeler,
- Çeşitli hücre tiplerinde önemli regülatör bölgeler için ChIP-seq bilgisi,
- 100'den fazla hücre tipinde kromatin konum bilgisi,
- Distal bölgelerin gen promotörleri ile birleştirilmesine izin veren kantitatif karakter lokus (eQTL) bilgisinin ifadesi,
- Kesin protein bağlama bölgelerini göstermek için DNase ayak izi
- Nükleotit varyantlarının potansiyel bağlanma motif değişikliklerinden faydalanılır.

Çizelge 3.1. RegulomeDB skorları ve karşılığı (Boyle ve ark. 2012)

1a	eQTL + TF binding + matched TF motif + matched DNase Footprint + DNase peak (kantitatif karakter lokusu, transkripsiyon bağlanma, eşleşen transkripsiyon faktörü motifi, eşleşen DNase ayak izi, DNase tepe noktaları)
1b	eQTL + TF binding + any motif + DNase Footprint + DNase peak
1c	eQTL + TF binding + matched TF motif + DNase peak
1d	eQTL + TF binding + any motif + DNase peak
1e	eQTL + TF binding + matched TF motif

Çizelge3.1. RegulomeDB skorları ve karşılığı (devamı)

1f	eQTL + TF binding / DNasepeak
2a	TF binding + matched TF motif + matchedDNaseFootprint + DNasepeak
2b	TF binding + any motif + DNaseFootprint + DNasepeak
2c	TF binding + matched TF motif + DNasepeak
3a	TF binding + any motif + DNasepeak
3b	TF binding + matched TF motif
4	TF binding + DNasepeak
5	TF bindingorDNasepeak
6	Diğer

3.3.3. Post-translasyonel modifikasyonları tespit etmek için kullanılan veri tabanları

3.3.3.1.NetOGlyc

Glikozilasyon en sık rastlanan post-translasyonel modifikasyonlardan biridir. 2 çeşit glikolizasyon mevcuttur: N-bağlı glikozilasyon ve O-bağlı glikozilasyon. GalNAc-tipi O -glikosilasyon diğer türe göre daha az çalışılmıştır. Sonuç olarak bu konudaki bilgiler daha azdır. GalNAc-tipi O –glikosilasyon da serin ve treonin (Ser/Tre) aminoasitlerine glikoz rezidülerinin bağlanması ile ortaya çıkan yaygın ve ortak bir modifikasyonudur(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>). Bu işlem GalNAc-transferaz ile düzenlenir.O- glikan bölgelerinin protein çapında bulunması için geliştirilen bu veri tabanına aminoasit dizisinde varyantların gösterdiği değişimlere göre wild-type dizide olmayan; mutasyon sonucu değişen Ser, Thr aminoasit değişimleri varsa bu değişimler gösterilir. Eğer bu çeşit bir glikozilasyon için olumlu sonuç çıkarsa sonuç POSITIVE olur (Steentoft ve ark. 2013).

3.3.3.2.NetPhos

Protein kinazlar, birçok hücresel işlemin sorunsuzca yerine getirilmesini için fosforilasyon olayını katalize eder. Bu işlemler arasında metabolizma, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücre için çok önemli görevler vardır.

Serin, treonin veya tirozin aminoasitlerinin fosforillenmesiyle çok sayıda hücresel işlem ve sinyalleri etkilenir (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>).Bu veri tabanı fosforilasyon bölgelerini %69 ile %96 arasında bir hassasiyetle öngören bir ağ kullanılır. Bunun için varyantlar içinde mutasyonla bu üç aminoasitten birine dönüşenler

belirlenir ve wild-type aminoasit dizisinin de bu değişim gösterilerek elde edilen dizi FASTA formatında veritabanına yüklenir. Bu üç aminoasit için 17 kinaz için tahminler yapar. Bukinazlar:

ATM, CKI, CKII, CaMII, DNAPK, EGFR, GSK3, INSR, PKA, PKB, PKC, PKG, RSK, SRC, cdc2, cdk5, ve p38MAPK. İşlemden sonra sonuç pozitifse cevap olarak ‘YES’ karşılığı alınır (Blom ve ark. 1999).

3.3.3.3.NetSurfP

Bu veri tabanı aminositlerin ikincil yapıları ve yüzeylerinin erişilebilirliği hakkında bilgi verir. Bir dizinin yüzey erişilebilirliğinin bulunması proteinlerin birbiriyle etkileşimi, SNP’lerin öngörülmesi, fosforilasyon bölgelerinin bulunması dâhil birçok konuda etkili olabilir. Yüzey erişilebilirliği tahmin etmede proteinin ikincil yapısının tahmin etmedeki yöntemler öncü olmuştur. Genelde tahmin için kullanılan araçlardan farklı olarak iki tahmin yapar (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetSurfP/>).

Önce sekans profilleri ve ikincil yapılar belirlenir daha sonra her aminoasit için yüzey maruziyeti tespit edilir. Bu veri tabanı her dizi için çeşitli sonuçlar gösterir; aminoasitin erişilebilirlik skorları, İkincil yapı tahminleri ve Z-fit skoru gibi değerleri ayrı kolonlarda inceleme fırsatı sunar. Z-fit skoru bir güvenilirlik skorudur ve bu değer yüksekse yüksek hata payını düşükse de az hatayı gösterir yani sonuçların güvenilirliği Z-fit skoru ile ters orantılıdır (Klausenve ark.2019).

3.3.3.4.SNPs&GO

İnsanlar arasındaki değişkenliğin ana nedeni olarak gösterilen SNP’ler en yaygın ve geniş kapsamlı varyant veri tabanında yaklaşık 51,8 milyon olarak gösterilmiştir.

SNP’lerin sebep olduğu aminoasit değişiklikleri Single aminoasit Polimorfizm (SAP) olarak isimlendirilir. Bunlar arasında nötr etki gösterenlerin ve zararlı olanların (patojeniklerin) bulunması hastalıkların varyantlarla ilişkisini tespit etmeyi kolaylaştırır. SNPs & GO gen ontolojisi terimleri kullanarak bu ilişkilendirmeyi kurmaya çalışır. GO terimleri üç ayrı başlıkta bu değerlendirmeyi yapar. Bunlar; moleküler fonksiyon, biyolojik proses ve hücrenel bileşenlerdir. Protein dizisi girildikten sonra mutasyona uğrayan aminoasitin GO terimleriyle tüm ilişkisi taranır ve olasılık 0.5'ten büyükse,

değişkenliğin hastalıkla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (<http://snps.biofold.org/snps-and-go/snps-and-go.html>). Sonuçta sadece kendi ilişki değerlendirmeleri değil aynı zamanda PANTHER algoritmasının skorları da gösterilir. SNPs & GO veri tabanının avantajı, SAP'ların etkisinin doğrudan protein sekansındaki değişimlerle ve bu değişimlerinde doğrudan fonksiyonla ilişkisinin gösterilebilmesidir (Capriotti ve ark.2013).

3.3.3.5.Sulfinator

Tirozinsülfatlama salgı yolundan geçen proteinler için önemli bir post-translasyonel modifikasyondur. Sulfinator veri tabanı protein dizilerinde tirozina minoasitinin sülfatlanmasıyla ilgili tahmin geliştirir (web.expasy.org/sulfinator/). Yaklaşık %98 doğrulukta tahmin verileri sunar. Sekans içindeki konumlarına bağlı olarak sülfatlanmış aminoasitleri tanımlamak için dört farklı HiddenMarkovModels (HMM) geliştirilmiştir. HMM birçok veri tabanında kullanılır. HMM'ler aminoasitlerin silinme ya da eklenme gibi değişimlerini bulmada çok işlevseldir. Çoklu dizi hizalamalarını skora dönüştürür. Veri tabanına FASTA formatında protein sekansı girilir. Sonuçta sülfatlanmasıyla alakalı E-value değerleri ve HMM'lerle eşleşmesinin olumlu olduğunu göstermek için "+" işareti kullanılır (Monigatti ve ark. 2002).

3.3.3.6.SUMOplot

SUMO proteinleri, ubikuitine benzer ancak ubikuitinin aminoasit dizisine sadece %20homoloji gösterir. İnsanlarda dört farklı SUMO geni vardır. SUMO-1ubikuitin ve ubikuitin benzeri süper ailesinin bir üyesidir. SUMO ile modifiye edilmiş proteinlerin çoğu, B-K-x-D / E tetrapeptid motifini içerir; burada B, bir hidrofobik kalıntıdır, K, SUMO'yakonjuge edilmiş lizindir, x, herhangi bir aminoasit (aa), D veya E, bir asidik kalıntıdır. SUMOplot dizinin SUMO ile bağlanma olasılığını tahmin eder. Buna göre yüksek bağlanma, düşük bağlanma ve örtüşen diziler gibi değerlemeler yapar (<https://www.abgent.com/sumoplot>).

3.3.3.7. UbPred

UbPred proteinlerdeki potansiyel ubikitinasyon bölgelerini tahmin eder. Ubikitinasyon birçok hücrenel süreçte rol oynar. Sıvı kromatografi, kütle spektrometrisi ile yapılan çalışmalarla ubikitinasyon bölgeleri tespit edilebilir. Ancak proteinlerinin deneysel olarak tanımlanması zordur. Bu sebeple şimdiye kadar tanımlanan bölgeler kullanılarak yeni ubikitinasyon bölgelerini tahmin etmek için bu veri tabanı kullanılır. Şimdiye kadar tanımlanan 266 ubikitin bölgesi bu amaçla kullanılır (<http://www.ubpred.org/>) Dizinin FASTA formatında girişi yapılır sonuç olarak skor tahminiyle beraber bu tahmine karşılık düşük ya da yüksek bağlanma tahminleri sunar (Radivojac ve ark. 2010).

3.3.4. Amerikan Tıbbi Genetik Koleji [American College of Medical Genetics (ACMG)] kriterlerine göre varyantların sınıflandırılması

Moleküler düzeyde anlamlı veriler elde etmek için SNP'lerin sağlıklı şekilde tanımlanması gerekir. Değişimin delesyon mu insersiyon mu olduğunu tespit etmek gerekir. Ancak bu değişiklikleri mutasyon ya da polimorfizm diye isimlendirmek onların patojen ya da iyi huylu olarak algılanmasına sebep olur. Bu yüzden ikisine birden varyant ismini verip değişiklikleri bu başlık altında sınıflandırmak daha doğrudur. Bu sınıf içinde varyantlar patojenik (pathogenic), muhtemel patojenik (likely pathogenic), etkisi bilinmeyen (uncertain significance), muhtemelen iyi huylu (likely benign) veya iyi huylu (benign) olarak ayrılır. Bu sayede varyantlar klinik olarak tanımlanır ve standart olarak tek bir adlandırma sağlanmış olur. Varyantlar çeşitli çalışmalardan ve küresel çaplı projelerden elde edilebilir ve bu varyantların yorumlanması için yardımcı birçok *in silico* araç kullanılabilir. ACMG bir varyantın klinik olarak önemini birtakım kriterlerle sunar (<https://www.acmg.net/>). Bu ayırım genel olarak patojen-muhtemel patojen ve iyi huylu-muhtemel iyi huylu olarak sunulur. Her patojenik kriter, çok güçlü (PVS1), güçlü (PS1-4), orta (PM1-6) ve destekleyici (PP1-5) olarak ayrılırken her iyi huylu kriter, tek başına (BA1), güçlü (BS1-4) veya destekleyici (BP1-6) olarak tanımlandırılır. Patojenik kriterler yakından incelenecek olursa;

1.) Çok Güçlü Patojenite Kanıtı

- PVS1:Fonksiyon kaybının bilinen bir hastalık sebebi olduğu durumlarda nonsense, frameshift mutasyonları başlama kodunu ya da birçok ekzonun delesyonu

2.)Patojeniteye Güçlü Kanıtlar

- PS1:Patojenik özellik gösteren aminoasit dönüşüm
- PS2:Ailesel hikâyesi olmadan hastalığı de novo gösterme
- PS3:Zararlı etkisi İn vivo ve İn vitro desteklenen gen ürününün zararlı etkisi
- PS4:Etkilenen bireylerde varyant prevalansının anlamlı derecede artması

3.)Patojeniteye Orta Dereceli Kanıtlar

- PM1: Bening varyant olmadan hot-spot noktalar ve kritik fonksiyonel alanlarda değişim
- PM2: ExomeSequencing Project, 1000 Genom veya ExAC gibi büyük projelerde görülmemesi
- PM3: Resesif bozukluklar için patojenik bir varyantla trans olarak tespit edilmesi
- PM4: Protein uzunluğunun in-frame delesyon ya da insersiyonla kısalması
- PM5: Farklı bir aminoasit kalıntısında tespit edilen değişim patojen olarak tespit edilmesi
- PM6: Ailesel hikâye öğrenilmeden de-novo olarak kabul edilmesi

4.)Patojeniteyi Destekleyen Kanıtlar

- PP1: Hastalığa yol açtığı bilinen bir genden etkilenen aile bireylerinde ayrılma
- PP2:Missense varyant patojenik çeşitliğe sahip ve yaygın bir hastalık mekanizmasına sahip yerdeyse
- PP3: İnsiliko analizlerle hesaplanma
- PP4: Hastanın fenotipi ve aile öyküsü

Bununla birlikte iyi huylu varyantlar içinde detaylı sınıflandırmalar mevcuttur.

1.)Benign etkinin Bağımsız kanıtı

- BA1: ExomeSequencing Project, 1000 Genom veya EcAC projelerinde allel frekansı %5' in üzerindedir.

2.)Benign etkinin güçlü kanıtı

- BS1: Allel sıklığı beklenenden daha yüksek
- BS2:Sağlıklı bir yetişkin bireydeerken yaşta tam penetrasyon ile beklenen resesif, dominant veya X'e bağlı bir hastalık
- BS3: *İnvivo* ve *invitro* çalışmalarla zararlı etkisinin gözlemlenememesi
- BS4: Bir ailenin etkilenen üyelerinde segregasyon eksikliği

4.)Benign etkiyi destekleyen kanıtlar toplamda 7 tanedir.

- BP1: hastalığa neden olduğu bilinen varyanttamissense mutasyon
- BP2: Tam olarak nüfuz eden bir baskın gen / bozukluğun patojenik bir varyant ile transda gözlemlenmesi
- BP3: Bilinen bir işlevi olmayan, yinelenen bir bölgedeki In-framedelesyon/ insersiyon işlemleri
- BP4: Çok sayıda hesaplamanın gen veya gen ürünü üzerinde bir etkisi olmadığını kanıtlaması
- BP5: Varyantın hastalık için alternatif bir moleküler temele sahip olduğunun bulunması
- BP6: Birçok kaynak varyantı benign olarak belirtse de bağımsız sonuçlar için laboratuvar bilgisi yoktur
- BP7: Sinonim (sessiz) bir değişkenin splicing etkisi yoksa ve nükleotid konumu yüksek oranda korunmuyorsa,

Bu değerler varyantın klinik durumu hakkında bilgi edinilmesini sağlar. Bunun için çeşitli varyasyonlarla birleştirilirler ve elde edilen duruma göre patojenik ya da bening gibi sıfatları kazanırlar (Richards ve ark. 2015).

3.3.5.gnomAD ile varyantların allel frekanslarının hesaplanması

Genom birleştirme veritabanı olan The Genome Aggregation Database (gnomAD) çeşitli ve büyük kapsamlı dizileme çalışmalarından sonuçları toplar ve daha zet halinde sunar. Bu veri tabanının da hastalıklarla ilişkisi olan olmayan birçok veri kullanılmıştır. Birleştirme yapılırken genome ve ekzome dizileme verileri bir arada kullanılmıştır (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Bu hesaplama önemlidir nk daha önceden hesaplamalar sadece ekzom tabanlı verilerle incelenerek oluşturulur ekzonlarda olmayan varyantlar hakkında bilgi edinilemezdi. Varyantın kimliği ile yapılan sorgulamalarda hem allel frekansı hem farklı populusyonlara göre frekanslarının sonuçlarına ulaşılır.

3.3.6.Haploview programı ile frekans hesaplama

Bu program çeşitli boyutlardaki veriler için haplotip analizi yapmaya olanak sağlar. Otomatik ya da manuel veri girişini kabul eden programa veri girişi olduktan sonra yazılım kullanıcıya bir dizi marker genotipleme kalitesi metrikleri sunar. Bu bir çeşit kalite kontrol panelidir (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>). Program, bu testler için önceden belirlenmiş bir eşiğin altına düşen işaretleyicileri filtreler. Daha sonra program verilere uyumlu populusyon frekansı sunar. Bu sayede çalışılan gruplar üzerinde bulunan varyantların frekansının genel frekansla uyumu ve yeni bulunan varyantlarında kendilerine ait frekans değerleri bulunur (Barrett ve ark. 2005).

4. BULGULAR

4.1. Varyantların Sınıflandırılması

673'ükadın, 841'i erkek olmak üzere 1514 hasta ile yapılan retrospektif çalışma sonucunda toplam 104 farklı varyant tespit edilmiştir. Toplam da 75 varyant ekzonik 29 varyant intronik bölgededir.

Bu varyantların 13 tanesi novel varyanttır. Novel varyanttan kasıt ilk kez gözlenen daha önce herhangi bir çalışma ya da yayında bahsi geçmeyen varyantlardır. Bu varyantlar sınıflandırılma sistemine dâhil olmadığı için bulunan her varyanta verilen kimlik numarası özelliği taşıyan rsno'ları yoktur. Bu 13 varyanttan 7 tanesi intronik bölgede, 6 tanesi ise ekzonik bölgededir.

104 varyantın 101'i SNV; 3 tanesi ise INDEL'dir. SNV'lerin 73 tanesi ekzonik ve bunlardan 5 tanesi novelvaryant; 28 tanesi intronik ve bunlardan da 6 tanesi novelvaryanttır. INDEL varyantlardan ise 2 tanesi ekzonik 1 tanesi introniktir. Bunların da ekzonik olanlardan bir tanesi ve intronik olanlardan bir tanesi novel varyanttır. Çizelge 4.1.' de varyantların yeri, türü ve novel olup olmamasına göre sınıflandırılması gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Varyantların tiplerine ve novel olup olmamasına göre sınıflandırılması

	Toplam Sayı	Ekzonik		İntronik	
		Toplam	Novel	Toplam	Novel
SNV	101	73	5	28	6
INDEL	3	2	1	1	1

*NM_000243.2: (NM: bir protein kodlayan RNA'ya (mRNA) dayanan bir referans)

*NC_000016.9 sekansı (NC: bir kromozom temelli bir genomik referans dizisi)

*GRCh 37.p13 (Genome Reference Consortium Human Build)

Ekzonik bölgede bulunan 75 varyantın protein üzerindeki etkileri ise çeşitlidir. Bunlardan 46 tanesi missense mutasyon, 28 tanesi Synonymous mutasyon ve 1 tanesi

ise frameshift mutasyonudur. Çizelge 4.2.'de bulunan varyantların hangi lokasyonda olduğu protein üzerine etkileri ve varyant tipleri gösterilmiştir.

Varyantların nasıl türde mutasyonlara sebebiyet verdiğini anlamak proteinin fonksiyonları üzerinde etkisini incelemeyi kolaylaştırır.

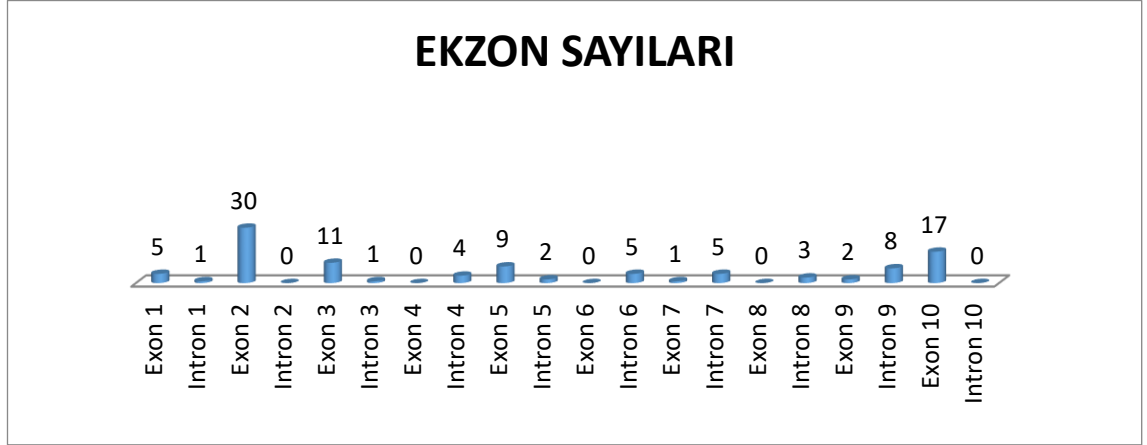
Çizelge 4.2: Tespit edilen varyantların lokasyonları, tipleri ve protein üzerindeki etkileri

Varyantların Lokasyonları	Varyant Tipleri		Protein Üzerine Etkileri		
	SNV	INDEL	Missense	Synonymous	Nonsense (Frameshift)
Ekzon 1	5		1	4	
Intron 1	1				
Ekzon 2	28	2	21	8	1
Intron 2					
Ekzon 3	11		8	3	
Intron 3	1				
Ekzon 4					
Intron 4	4				
Ekzon 5	9		3	6	
Intron 5	2				
Ekzon 6					
Intron 6	5				
Ekzon 7	1			1	
Intron 7	4	1			
Ekzon 8					
Intron 8	3				
Ekzon 9	2		1	1	
Intron 9	8				
Ekzon 10	17		12	5	

*NM_000243.2 *GRCh37.p13 *NC_000016.9

Lokasyon bazında incelenecek olursa en çok varyant 30 tane ile ekzon 2' dedir. İkinci sırada ise 17 varyantla ekzon 10 vardır. Grafik 4.1.'de ekzonlara göre varyant karşılaştırılması gösterilmiştir.

Grafik 4.1: Lokasyonlara göre varyant sayıları



4.1.1. Varyantların Infevers veri tabanı ile karşılaştırılması

Infevers veri tabanında *MEFV* genine ait 365 varyant bulunur. Çalışma boyunca elde edilen 104 varyantın Infevers veri tabanındaki varyantlarla karşılaştırılarak bunların yaygın varyant olup olmadığı hakkında bilgi edinilebilir. Yapılan çalışmayla ortak 67 varyant tespit edilmiştir.

4.2. Varyantların Protein Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi

4.2.1. SIFT veri tabanından elde edilen sonuçlar

Mevcut varyantların aminoasit değişikliklerinin protein üzerindeki etkisi gözlemlemeye çalışmak için kullanılan veri tabanının gösterdiği sonuçlara göre; 75 ekzonik varyantın 63 tanesinde sonuç alınmıştır. 63 varyantın 52 tanesi TOLERATED; 11 tanesi DELETERIOUS' tur. Ekzonik olan Novel varyantlar arasında ise 5 sonuç elde edilmiştir. Bunlardan 4 tanesi TOLERATED; 1 tanesi DAMAGING' tir. Bu durumda yeni bulduğumuz varyantlar arasında fenotipi etkileyecek bir mutasyonun varlığından bahsedilebilir.

4.2.2 MutationTaster veri tabanından elde edilen sonuçlar

Çalışma sonucunda elde edilen varyantlar içinde proteinin fonksiyonunu değiştirecek potansiyeldeki mutasyon türü olan missense varyantlar seçilerek analiz edilmiştir. Buna göre elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3.MutationTaster veri tabanına göre varyantların sınıflandırılması

Elde Edilebilecek Sonuçlar	Varyant Sayısı
Diseasecausing (hastalığa sebep olan)	14
Polymorphism (hastalık sebebi olmayan)	59

4.2.3 Polyphen veri tabanından elde edilen sonuçlar

Varyantların mutasyon çeşidine göre sınıflandırılmasında toplam 46 missense mutasyon tespit edildi. Sonuçlar Çizelge 4.4.'te gösterildiği gibidir. Bu mutasyonların Polyphen veri tabanındaki karşılığı; 8 varyantta PROBABLY DAMAGING, 25 varyantta BENIGN ve 13 varyantta ise POSSIBLY DAMAGING'tir.

Çizelge 4.4.Missense Mutasyonlarla Polyphen Veri Tabanından Elde Edilen Sonuçlar

	Polyphen Veri Tabanından Elde Edilebilecek Sonuçlar		
	PROBABLY DAMAGING	BENIGN	POSSIBLY DAMAGING
Elde Edilen Varyant Sayısı	8	25	13

4.2.4 RegulomeDB veri tabanından elde edilen sonuçlar

RegulomeDB veritabanı ile yapılan analiz çalışması neticesinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. RegulomeDB veri tabanında sonuç veren varyantların rs numaraları ve aldığı değerler

RegulomeDB Skorları	rs no	RegulomeDB skorları	rs no
4	rs113314808	5	c.1611-41dupC
4	rs77380520	5	rs569998874
4	c.1759+15A>G	5	rs1231123
4	rs558918145	5	rs1231122
4	rs753528872	5	rs11466045
4	rs536557865	5	rs1468410559
5	rs547393490	5	rs104895176
5	rs104895077	5	rs104895213
5	rs104895124	5	rs104895128
5	c.277+57A>C	5	rs2234939
5	rs11466018	5	rs104895201
5	c.361C>A	5	rs28940579
5	rs104895078	6	rs104895081
5	rs777867857	6	rs1294106083
5	rs1471371733	6	rs75977701
5	rs224224	6	rs567739580
5	rs104895130	6	rs104895157
5	rs3743930	6	rs1255044091
5	rs104895076	6	c.1988C>A

Çizelge 4.5. RegulomeDB veri tabanında sonuç veren varyantların rs numaraları ve aldığı değerler (devamı)

RegulomeDB Skorumları	rs no	RegulomeDB Skorumları	rs no
5	rs104895185	6	rs61752717
5	rs756975501	6	c.2081T>A
5	rs224223	6	rs28940578
5	c.495-496delCTinsAC	6	rs104895094
5	rs104895079	1f	rs224205
5	rs104895179	2b	c.30G>T
5	rs224222	2b	rs774807554
5	rs104895182	2b	rs104895097
5	rs104895181	3a	rs763711859
5	rs104895080	3a	rs375450800
5	rs104895127	3a	rs61732874
5	rs11466021		
5	rs104895204		
5	rs224213		
5	rs786205886		
5	c.1214A>G		
5	rs11466024		
5	rs104895195		
5	rs142775938		
5	rs224212		
5	c.1357-55A>G		
5	rs104895151		
5	rs224208		
5	rs224207		
5	rs104895083		
5	rs61732424		
5	rs76464258		
5	rs104895099		
5	rs200557537		
5	rs224206		
5	rs146820856		
5	rs991727292		
5	c.1588-130C>T		
5	c.1588-84T>C		

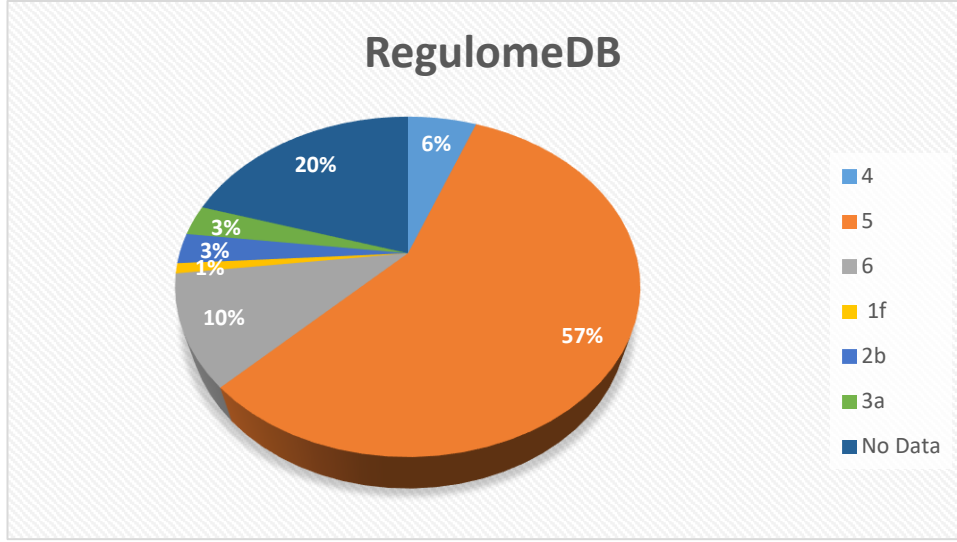
Sonuçların grafiksel karşılığı Grafik 4.2.'de gösterilmiştir.Skor olarak bu değerlerin yorumlanması Çizelge 4.6.' te gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.6. Novel Varyantların RegulomeDBveritabanındaki skorlarına göre ifade ettiği anlamlar

Skorlar	İfade Ettiği Anlamlar
1f	eQTL + TF binding / DNasepeak
2b	TF binding + any motif + DNaseFootprint + DNasepeak
3a	TF binding + any motif + DNasepeak
4	TF binding + DNasepeak
5	TF bindingorDNasepeak
6	Other

Bu durumda en etkili olan varyant 2b skorunu veren varyanttır. Çünkü transkripsiyon faktörü bağlanma motifinden DNase ayakzine kadar geniş bir skalada regülatör görevi görebilir.

Grafik 4.2. Çalışma Sonucu Elde Edilen Varyantların RegulomeDB skorları yüzdesi



4.3 Proteinlerin Post-translasyonel Modifikasyonlarının İncelenmesi

4.3.1 NetOGlyc

Yapılan çalışmada aminoasit değişiklikleri gösteren varyantlar içinde wild-type aminoasitlerden Ser ve Thr aminoasitlerine dönüşüm yapan toplam 8 varyant mevcuttur. Yukarıda belirtilmiş olan 8 varyantın 5 adedinde DNA'daki değişim sonucu sentezlenen yeni aminoasitlerde glikolizasyon ile ilgili pozitif sonuç çıkmıştır. Varyasyon sonucu aminoasit değişikliği gösteren ve bu değişiklik sebebi ile glikolizasyon motifinde değişiklik gösteren varyantlardan biri de verilerimizde ilk defa bulunmuş olan novel varyantlardan biridir(p.Pro121Thr (c.361C>A)). Çizelge 4.6.'da bu sonuçlar gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Çalışmada elde edilen *MEFV* varyantları arasında glikozilasyona uğrayabilecek olanlar ve elde edilen sonuç

Rs numarası	Protein	Başlangıç	Bitiş	Skor	Sonuç
rs11466023	p.Pro369Ser	369	369	0.652584	#POSITIVE
rs61732874	p.Ala744Ser	744	744	0.00794556	
c.361C>A (novel varyant)	p.Pro121Thr	121	121	0.945803	#POSITIVE
rs104895124	p.Ala89Thr	89	89	0.589109	#POSITIVE
rs11466045	p.Ile591Thr	591	591	0.145747	
rs104895128	p.Gly632Ser	632	632	0.308169	
rs1471371733	p.Asn127Ser	127	127	0.804275	#POSITIVE
rs104895185	p.Arg151Ser	151	151	0.860099	#POSITIVE

4.3.2.NetPhos

Varyantlar arasında wild-type aminoasit dizisini serin, treonin ya da tirozin aminoasitlerine dönüştürenler seçilir. Bu varyantlar aşağıdaki sıralanan varyantlardır.

Bunlar arasında fosforilasyona uğrayacağı tahmin edilen varyant sayısı 8 tanedir. Bunların hangi kinazlar aracılığıyla fosforile olabileceği ise Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge4.8.*MEFV* varyantları arasında fosforilasyona uğrayabilecek varyantlar ve bunlara aracılık edebilecek kinazlar

Sequence	#	x	Context	Score	Kinase	Answer
<i>MEFV</i>	369	S	GSLSSQPLP GSLSSQPLP GSLSSQPLP	0.608 0.549 0.529	DNAPK ATM cdc2	YES YES YES
<i>MEFV</i>	744	S	IYTFSSCSF	0.740	PKC	YES
<i>MEFV</i>	632	S	RLPDSPQRF RLPDSPQRF RLPDSPQRF	0.989 0.543 0.534	Unsp p38MAPK GSK3	YES YES YES
<i>MEFV</i>	127	S	HPEGSENG HPEGSENG	0.910 0.579	Unsp CKI	YES YES
<i>MEFV</i>	151	S	PEAGSGLSR PEAGSGLSR	0.598 0.518	cdc2 PKC	YES YES
<i>MEFV</i>	*121 (Novel)	T	SLKTTDHPE SLKTTDHPE	0.586 0.516	PKG CKII	YES YES
<i>MEFV</i>	89	T	-	-	-	-
<i>MEFV</i>	591	T	VPALTGAQA	0.534	unsp	YES
<i>MEFV</i>	288	Y	DGGAYADLK	0.914	unsp	YES

4.3.3.NetSurfP

İkincil yapı tahminleri ve yüzey erişilebilirliğinin incelendiği veri tabanına missense ve frameshift mutasyonu sonucunda aminoasit değişikliğine maruz kalan varyantlar seçilir. Bunun sebebi ise varyantın etkisinin gözlemlenebilmesi için önce aminoasit değişiminin olmasının gerekmesidir. Mutasyonlar arasında aminoasit değişimine sebep olanlar Çizelge 4.8.' te gösterildiği üzere toplam 47 varyantta tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Çalışma ile elde edilen varyantlar arasında sinonim mutasyon gösteren aminoasitler hariç tüm varyantların Yüzey erişilebilirliği tahminleri gösteren z-fit skoru ve ikincil yapı tahminleri(*'ile gösterilenler novel varyantlardır)

Class	aminoacid	sequence name	Aminoacid	z fit score	alfa	beta	coil
E	T	MEFV	89	0.925	0.923	0.002	0.076
E	K	MEFV	97	-0.945	0.018	0.019	0.964
E	P	MEFV	110	-1.116	0.056	0.142	0.802
E*	T	MEFV	121	-0.570	0.018	0.047	0.935
E	S	MEFV	127	-1.054	0.053	0.043	0.903
E	I	MEFV	141	-1.644	0.052	0.084	0.864
E	V	MEFV	148	-1.881	0.052	0.084	0.864
E	O	MEFV	148	-1.251	0.052	0.084	0.864
E	S	MEFV	151	-1.510	0.018	0.047	0.935
E	P	MEFV	154	-1.340	0.053	0.043	0.903
B*	P	MEFV	166	-1.829	0.053	0.043	0.903
E	D	MEFV	167	-1.103	0.052	0.084	0.864
E	W	MEFV	196	-1.479	0.113	0.043	0.844
E	O	MEFV	202	-0.932	0.052	0.084	0.864
E	D	MEFV	225	-0.639	0.018	0.047	0.935
E	K	MEFV	230	-1.258	0.020	0.205	0.775
E	K	MEFV	251	-1.570	0.184	0.043	0.773
B	R	MEFV	256	-1.925	0.018	0.019	0.964
E	V	MEFV	259	-1.551	0.115	0.016	0.868
B	I	MEFV	267	-0.486	0.066	0.296	0.638
E	R	MEFV	283	-1.770	0.018	0.047	0.935
E	Y	MEFV	288	-0.150	0.278	0.093	0.628
E	R	MEFV	304	-0.800	0.268	0.043	0.689
B	H	MEFV	314	-0.592	0.056	0.142	0.802
E*	R	MEFV	322	-0.493	0.113	0.087	0.800
B	F	MEFV	339	-0.864	0.622	0.015	0.363
E	S	MEFV	369	-0.722	0.430	0.016	0.555
E	H	MEFV	377	0.750	0.879	0.010	0.111
E	V	MEFV	389	0.233	0.268	0.043	0.689
E*	R	MEFV	405	-0.344	0.053	0.043	0.903
E	O	MEFV	408	-1.215	0.113	0.087	0.800
E	V	MEFV	457	0.944	0.923	0.002	0.076
E	L	MEFV	479	0.650	0.923	0.002	0.076
E	N	MEFV	510	-0.615	0.717	0.014	0.269
E	T	MEFV	591	-1.220	0.199	0.152	0.649
E	S	MEFV	632	-0.728	0.016	0.005	0.979
E*	K	MEFV	663	-0.835	0.005	0.262	0.733
B	I	MEFV	680	-1.619	0.021	0.451	0.528
B	I	MEFV	694	-0.067	0.003	0.718	0.279
B	K	MEFV	694	-0.034	0.003	0.718	0.279
B	V	MEFV	694	0.098	0.003	0.718	0.279
E	R	MEFV	695	-0.619	0.004	0.085	0.910
B	M	MEFV	722	0.585	0.002	0.816	0.182
E	A	MEFV	726	-0.330	0.005	0.015	0.979
B	S	MEFV	744	0.294	0.005	0.336	0.660
E	H	MEFV	761	-1.280	0.005	0.015	0.979
E	C	MEFV	761	-1.163	0.018	0.047	0.935

4.3.4.SNPs&GO

Elde edilen varyantlar arasında aminoasit değişikliği gözlenen toplam 47 adet varyantın SNPs&GO sonuçları Çizelge 4.9’da gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.10. Aminosit Değişimi Gösteren Varyantların SNPs&GO sonuçları(‘*’ ile gösterilenler novel varyantlardır.)

Mutasyon	Tahmin	Güvenilirlik Endeksi	Olasılık tahmini
A89T	Neutral	4	0.324
Q97K	Neutral	4	0.284
L110P	Neutral	6	0.193
P121T*	Neutral	9	0.042
N127S	Neutral	9	0.070
S141I	Neutral	9	0.036
E148V	Neutral	6	0.224
E148Q	Neutral	7	0.149
R151S	Neutral	8	0.094
S154P	Neutral	6	0.179
S166P*	Neutral	10	0.019
E167D	Neutral	6	0.223
G196W	Neutral	6	0.194
R202Q	Neutral	9	0.045
E225D	Neutral	3	0.327
E230K	Neutral	0	0.484
E251K	Neutral	4	0.304
N256R	Neutral	4	0.312
I259V	Neutral	10	0.021
T267I	Neutral	6	0.184
P283R	Neutral	1	0.463
S288Y	Neutral	2	0.396
G304R	Neutral	2	0.399
R314H	Neutral	6	0.179
P322R*	Disease	1	0.538
S339F	Neutral	1	0.438
P369S	Neutral	7	0.138
R377H	Neutral	7	0.173
D389V	Neutral	4	0.301
Q405R*	Neutral	9	0.066
R408Q	Neutral	6	0.193
A457V	Neutral	8	0.100
F479L	Neutral	7	0.165
D510N	Neutral	7	0.161
I591T	Neutral	8	0.084
G632S	Neutral	8	0.089
T663K*	Neutral	2	0.411
M680I	Neutral	7	0.152
M694K	Neutral	4	0.292
M694V	Neutral	6	0.214
M694I	Neutral	4	0.321
K695R	Neutral	5	0.228
V722M	Neutral	5	0.269
V726A	Neutral	8	0.095
A744S	Neutral	8	0.113
R761H	Neutral	8	0.093
R761C	Disease	0	0.516

*Neutral: Nötr varyasyon *Disease: Hastalıkla ilişkili varyasyon

Bu sonuçlara göre 47 varyantın 45 tanesinin nötr 2 tanesinin patojen olduğu görülür. Patojen olanlardan birinovel varyantların içindedir.

4.3.5.Sulfinator

Sulfinator, protein dizilerinde tirozinsülfatlanma bölgelerini tahin eder. Çalışma sonucunda aminoasit dönüşümü tirozin olan bir varyant elde edilmiştir. Rs387907567 varyantında gözlemlenen p.Ser288Tyr dönüşümü sonucunda elde edilen sonuç wild-type dizi ile aynıdır. Bu sonuç Çizelge 4.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.11.Sulfinator ile tirozine dönüşen dizinin sülfatlanmadığı görülmüştür. Sonuç wildtype dizi ile aynıdır

Protein / sequence name	Position	E-value	Sequence
<i>MEFV</i>	573	[45]	EKSTKYFSETLRSEMEM e ++ Y + + e e+

4.3.6.SUMOplot

SUMOplotveri tabanında çalışmak için öncelikle aminoasit dizisini değiştiren varyantlar tespit edilmiştir. Lizin dönüşümü sağlayan aminoasitlerle yapılan inceleme sonucu Çizelge 4.11'de gösterilmiştir. Sonuçlar wild-type dizi ile aynıdır yani lizin dönüşümü sağlanan dizilerden sadece Met694Lys dönüşümü sağlanan dizi sonuç vermiştir.

Çizelge4.12.SUMOplot verilerine göre dizilerin SUMO ile bağlanma olasılığı(Kırmızı ile gösterilenler yüksek bağlanma oranı gösteren diziler, mavi ile gösterilenler düşük bağlanma gösterenler)

No.	Lizinin pozisyonu	Group	
1	K712	PTRLL IK EP PKRVG	0.84
2	K292	GAYAD LK EG PGNPE	0.73
3	K3	M AK TP SDHLL	0.69
4	K563	IQLLH QK SE FVEKS	0.5
5	K465	KQRVQ RK LE QVYYF	0.44
6	K164	LSKRR EK AP DGLDA	0.39
7	K252	TISTG KK AP ARPEV	0.37
8	K362	QDSHE RK SP GSLSS	0.34
9	K435	HLKKL RK SG EEQRS	0.27
10	K694	YWVVI MK RE NEYQA	0.8

Met694Lys

4.3.7.UbPred

UbPred veri tabanı ubikitin bölgelerini tahmin ettiği için lizin aminoasidi ile ilişkilidir. Çizelge 4.12.'de UbPred veri tabanından elde edilen sonuçlar gösterilmiştir. Varyantlar arasında aminoasit değişimi lizin olan beş tanedir.

Çizelge 4.13.UbPRED veri tabanına göre varyatların tahmini skorları ve bağlanma gösterip göstermediği ve bağlanıyorsa göstereceği eşleşme oranı

Rs numarası	Aminoasit dönüşümü	Rezidü	Skore	Sonuç	
rs61752717	p.Met694Lys	97	0.86	Yes	High confidence
rs104895080	p.Glu230Lys	230	0.21	No	
rs104895111	p.Glu251Lys	251	0.70	Yes	MediumConfidence
c.1988C>A	p.Thr663Lys	663	0.41	No	
rs747515115)	p.Gln97Lys	694	0.54	No	

4.4. Varyantların ACMG Kriterlerine Göre Sınıflandırılması

Çalışmada *MEFV* geninin farklı lokasyonlarında çeşitli varyantlar elde edilmiştir. Bu varyantların patojentesi hakkındaki sınıflandırmayı yapmada geliştirilen ACMG kriterlerinden faydalanılmıştır.Burada elde elden sonuçlar Çizelge4.13.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.14.Çalışmada elde edilen 104 varyantın ACMG kriterlerine göre sınıflandırılması

Bulunan Varyantların ACMG Kriterlerine Göre Sınıflandırılması	
ACMG Kriterleri	Bu Kriterleri Gösteren Varyant Sayısı
UncertainSignificance	77
Benign	11
Pathogenic	5
LikelyPathogenic	5
LikelyBenign	6

Bu sonuçlara göre en çok gözlenen ACMG kriteriUncertainSignificance denilen ve klinik önemi henüz anlaşılammış gruptur.

4.5.gnomADve Haploview Programı Bulunan AllelFrekasları

Allel frekansları hakkındaki bilgiler iki veri tabanı aracılığıyla elde edilmişti. Bunlardan gnomAD bilinen varyantların popülasyondaki frekansını hesaplarken Haploview programı çalışmadan elde edilen veriler ışığında allel frekansı hesaplaması yapmıştır. Çizelge 4.14' te missensevaryatlarınHaplowiew ile hesaplanan ve gnomAD ile bulunan değerleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. Missense varyantların gnomAD ve Haploview programına göre elde edilen sonuçları ‘*’ ile işaretli olan sonuçlar novel varyantlara ait olan değerlerdir.

rsno	MAF	gnomAD	rsno	MAF	gnomAD
rs104895124	0.001	0.00001208	rs20055753	0.000	0.0001352
rs747515115	0.0003	0.00005708	rs11466045	0.004	0.01089
rs11466018	0.003	0.006366	rs10489512	0.001	0.0000363
*c.361C>A	0.0003		*c.1988C>	0.000	
rs1471371733	0.0003	0.000	rs28940580	0.024	0.0001034
rs104895130	0.0003	0.000008411	rs61752717	0.106	0.0002722
rs3743930	0.055	0.06576	c.2081T>A	0.000	
rs104895076	0.002	0.00007154	rs28940578	0.005	0.0001273
rs104895185	0.0003	0.00006901	rs10489509	0.007	0.005826
rs756975501	0.0003	0.00003827	rs10489520	0.000	0.0000141
*c.495_496delCTinsA	0.0003		rs28940579	0.033	0.001983
rs104895079	0.001	0.00004693	rs61732874	0.008	0.001764
rs104895179	0.0003	0.001661	rs77480755	0.000	0.0000477
rs224222	0.263	0.2354	rs10489509	0.009	0.0002051
rs104895181	0.0003	0.000008063			
rs104895080	0.001	0.0006288			
rs104895111	0.002	0.000003978			
rs104895144	0.0003	0.00003182			
rs104895081	0.001	0.0001485			
rs104895119	0.0003	0.00001989			
rs387907567	0.0003	0.000007956			
rs75977701	0.001	0.004685			
rs104895204	0.0003	0.00008869			
*c.965C>G	0.0003				
rs104895157	0.001	0.0001789			
rs11466023	0.013	0.0147			
rs144998416	0.0003	0.00003184			
rs786205886	0.0003				
*c.1214A>G	0.001				
rs11466024	0.012	0.01336			
rs104895151	0.001	0.0002546			
rs104895083	0.001	0.00004242			

4.6. Novel Varyantlarda Değişimlerin Fenotip Üzerindeki Etkisi

FMF’de hastalığın seyri sahip olunan varyantla sıkı bağlantı içindedir. Fenotipin ortaya çıkmasında sahip olunan varyantlar önemlidir. Bu varyantlara göre hastalık daha şiddetli

ya da daha hafif formda seyredebilir. Çalışmamızda ilk kez ortaya çıkan varyantların fenotipik özelliklerini araştırmak bu varyantların hastalık seyrindeki etkisini araştırmada önemlidir. Çizelge 4.15.'te ekzoniklokasyonda olan novel varyantların fenotipik özellikleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Novel varyantlar için ekzoniklokasyonda olmalarının fenotipik özellikleri

cDNA	Eritem	Amiloidoz	Atak sırasında Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/saat)	Atak sırasında Lökosit sayısı (x10 ⁹ L)
c.361C>A	yok	yok	Bilgi Yok	Bilgi Yok
c.1988C>A	var	yok	Bilgi Yok	Bilgi Yok
c.495_496delCTinsAC	yok	yok	27	11,1
c.965C>G	yok	yok	30	Bilgi Yok
c.30G>T	var	yok	30	Bilgi Yok
c.1214A>G	yok	yok	Bilgi Yok	Bilgi Yok
c.1214A>G	yok	yok	Bilgi Yok	Bilgi Yok
cDNA	Yakın akrabada FMF öyküsü	Yakın akrabada Böbrek yetmezliği öyküsü	Anne-baba akrabalık derecesi	Kolşisin kullanımı var mı
c.361C>A	var	Bilgi Yok	akraba değil	Bilgi Yok
c.1988C>A	yok	yok	yok	var
c.495_496delCTinsAC	yok	yok	Bilgi Yok	var
c.965C>G	var	yok	akraba değil	yok
c.30G>T	yok	yok	Bilgi Yok	var
c.1214A>G	var	yok	Bilgi Yok	yok
c.1214A>G	var	yok	Bilgi Yok	yok

Çizelge 4.16.Novelvaryantar içine ekzonik lokasyonda olaların fenotipik özellikleri (devamı)

cDNA	Cinsiyet	yaş	Şikayetlerin başlangıç yaşı	Karın ağrısı	Ateş	Artralji/ Artrit
c.361C>A	E	13	7	var	var	var
c.1988C>A	K	18	8-10 y	var	var	yok
c.495_496del CTinsAC	E	4	3	var	var	yok
c.965C>G	K	8	7	yok	yok	var
c.30G>T	E	35	33	yok	yok	var
c.1214A>G	K	8	Bilgi Yok	yok	yok	yok
c.1214A>G	E	41	Bilgi Yok	yok	yok	yok
cDNA	Atak sıklığı	Atak süresi (gün)	Sırt ağrısı	Göğüs ağrısı	Kabızlık /İshal	Bulantı/ Kusma
c.361C>A	2 hf	1	var	yok	yok	yok
c.1988C>A	Bilgi Yok	Bilgi Yok	var	yok	yok	yok
c.495_496del	Bilgi Yok	Bilgi Yok	yok	yok	yok	yok
c.965C>G	2ay	1 gün	yok	yok	yok	yok
c.30G>T	Bilgi Yok	Bilgi Yok	yok	yok	yok	yok
c.1214A>G	Bilgi Yok	Bilgi Yok	yok	yok	yok	yok
c.1214A>G	Bilgi Yok	Bilgi Yok	yok	yok	yok	yok

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada 1514 hastadan elden edilen 104 varyantın 13'ü daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilmemiş varyantlardır. Bu yüzden RefSNPID'leri mevcut değildir. Bu novel varyantlardan missense mutasyona sebep olanlarında *insilico* analizleri hastalığa sebep olup olmama açısından tanımlayıcı olabilir. 5 missensevaryantın *insilico* analizleri çizelge 5. 1' de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1. Novel varyantlar içinde missense mutasyona sebep olan 5 varyantın *insilico* analiz sonuçları

Kromozom lokasyonu	cDNA	Aminoasit Değişimi	SIFT	MT	PP2	ACMG
3304707	c.361C>A	p.Pro121Thr	T	P	B	VUS
3304572	c.495_496delCTinsAC	p.Ser166Pro			B	VUS
3299726	c.965C>G	p.Pro322Arg	D	P	PSD	VUS
3299477	c.1214A>G	p.Gln405Arg	T	P	B	VUS
3293499	c.1988C>A	p.Thr663Lys	T	DC	PRDD	VUS

*NM_000243.2

*NC_000016.9

*GRCh37.p13

*MT: MutationTaster (P: Polymorphism, DC: Diseasecausing)

*PP2: Polyphen (B: Bening, PSD: PossibilyDamaging, PR: ProbablyDamaging)

* SIFT: T:Tolerated, D: Damaging

* ACMG: VUS: UncertainSignificance

Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere missense değişimi sahip novel varyantların *insilico* analiz sonuçları değişkendir. 3 veri tabanı sonuçları içinde ortak olarak patojenite gösteren novel bir varyant yoktur.

3304707,3293499 lokasyonundaki varyantlar ise 3 veri tabanı içinde hastalık sebebi olmayan sonuçlar göstermiştir. Bu varyantların fenotipide bu yönde olabilir.

Ancak bu beş sonuç içinde ACMG kriterleri 'UncertainSignificance' sonucunu vermiştir. Yani bu varyantların klinik önemi belirsizdir.

In silico analiz sitelerinde ortak olarak tehlikeli olabilecek sonuçlar veren varyantlar arasındaki ilişki Çizelge 5.2’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre 3 *in silico* veri tabanı için ortak olarak hastalıkla ilişkilendirebilecek bir sonuç elde edilememiştir. Ancak kıyaslamalar yapıldığında iki veri tabanında ortak olarak tehlikeli sonuç oluşturacak varyantlar tespit edilmiştir. Farklı veri tabanlarında ortak olarak aynı değerlendirmelerin tespit edilmesi *in vivo* çalışmalarda alan daraltılmasında büyük önem taşır. Çünkü *in vivo* çalışmalara başlamadan önce bu çalışmayı gerekli kılacak sonuçlar elde edilmelidir. Buna göre çalışma şekli ve çalışma planı ortaya koyulabilir. Bu sonuçları değerlendirip ortak olarak tehlikeli varyantlar tespit edilip o varyantlar üzerinde araştırmalar derinleştirilebilir.

Çizelge 5.2. *In silico* analiz sitelerinde ortak olarak tehlikeli olabilecek sonuçlar veren varyantlar

sıft/polyphen2	mutation taster/polyphen2	sıft/mutation taster
c.965C>G	rs104895081	
rs104895076	c.1988C>A	
rs104895124	rs104895079	
rs104895179	rs786205886	
rs200557537	rs28940578	
rs3743930		
rs387907567		

Yine novel 13 varyantın Haploview yardımıyla bulunan MAF değerleri çizelge 5.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. Novel varyantların MAF değerleri

Kromozom Lokasyonu (NC_000016.9)	cDNA	MAF
3306558	c.30G>T	0.0003
3306254	c.277+57A>C	0.0003
3304707	c.361C>A	0.0003
3304572	c.495_496delCTinsAC	0.0003
3299726	c.965C>G	0.0003
3299477	c.1214A>G	0.001
3297301	c.1357-55A>G	0.0003
3296677	c.1588-130C>T	0.0003
3296631	c.1588-84T>C	0.0003
3294628	c.1611-41dupC	0.0003
3294445	c.1726+28G>A	0.0003
3294239	c.1759+15A>G	0.0003
3293499	c.1988C>A	0.0003

Görüldüğü üzere novel varyantlar popülasyon içinde düşük frekans sıklığına sahiplerdir. Bu sonuç 0.0003 gibi bir değerle kendini gösterir. Ancak 3299477 kromozom lokasyonun da bulunan varyant novel olsa da frekans değerinin yüksekliği dikkate değerdir.

Yapılan çalışmalarda Türk popülasyonun da bulunan yaygın varyantlar p.M694V, p.M680I, p.V726A, p.E148Q değişimi sağlayanlardır. Bu varyantların frekanslarının gnomAD veri tabanı ile karşılaştırılmış hali çizelge 5.3'te gösterildiği gibidir.

Çizelge 5.4. Türk popülasyonunda yaygın olarak görülen varyantların çalışmadaki frekansları ile gnomAD veri tabanındaki frekanslarının karşılaştırılması

Kromozom Lokasyonu	Rs Numarası	Aminoasit değişimi	cDNA	MAF	gnomAD frekansı
3293407	rs6175271	p.Met694Val	c.2080A>G	0.106	0.0002722
3293447	rs2894058	p.Met680Ile	c.2040G>C	0.024	0.0001034
3293310	rs2894057	p.Val726Ala	c.2177T>C	0.033	0.001983
3304626	rs3743930	p.Glu148Gln	c.442G>C	0.055	0.06576

Çizelge 5. 3'te görüldüğü üzere Türk popülasyonunda yaygın olarak karşılaşılan varyantlar çalışmada da yüksek frekansla gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre çalışmamızda elde edilen sonuçlar Türk popülasyonu ile uyumludur.

Ayrıca çalışmada yüksek frekans gösteren başka varyantlar da vardır. Bunların frekansları ve gnomAD veri tabanı ile karşılaştırılması çizelge 5. 4'de gösterildiği gibidir.

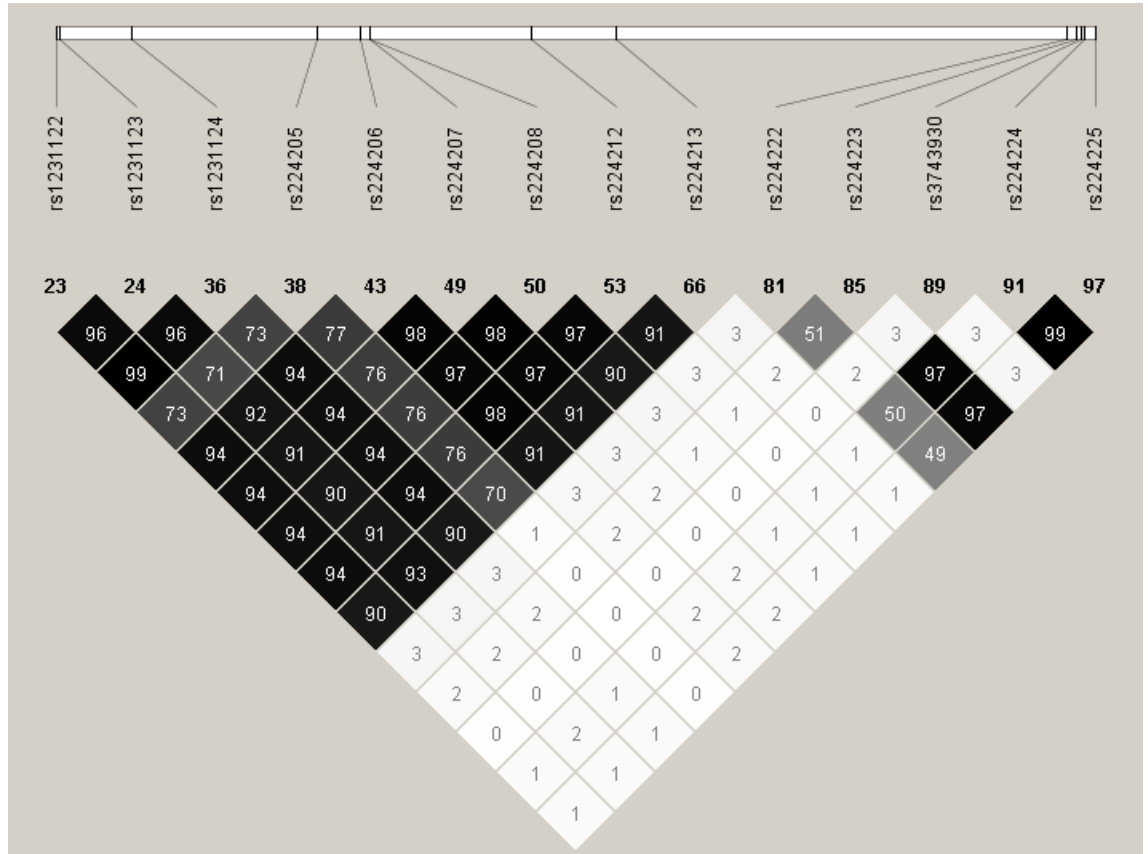
Çizelge 5. 5. Yüksek frekansa sahip diğer varyantların sonuçları

Kromozom Lokasyonu	rsno	Aminoasit Değişimi	MAF	gnomAD Frekansı
3304762	rs224225	p.Asp102Asp	0.413	0.4477
3304654	rs224224	p.Gly138Gly	0.411	0.4443
3304573	rs224223	p.Ala165Ala	0.412	0.4368
3304463	rs224222	p.Arg202Gln	0.263	0.2354
3299749	rs224213	p.Arg314Arg	0.483	0.6267
3298865	rs224212		0.493	0.6083
3297181	rs224208	p.Glu474Glu	0.5	0.6018
3297175	rs224207	p.Gln476Gln	0.496	0.6049
3297073	rs224206	p.Asp510Asp	0.494	0.6101

Çizelge 5. 5. Yüksek frekansa sahip diğer varyantların sonuçları (devamı)

3296616	rs224205		0.444	0.4718
3294678	rs1231124		0.496	0.4127
3293922	rs1231123		0.487	0.3766
3293888	rs1231122	p.Pro588Pro	0.497	0.3939

Bu sonuçları LD (LinkageDisequilibrium) sonuçlarıyla yorumlamak gerekir. Bu sonuçlar şekil 5. 1' de gösterilmiştir.



Şekil 5. 1. LD (LinkageDisequilibrium) sonuçları

Bu diyagramdan da anlaşılacağı üzere yaygın frekans gösteren varyantlar birbiriyle bağlantı olarak aktarılır. Yani bu varyantlar birbirine yakın gen bölgeleri üzerinde bulunduğu için Mendel kurallarına uymayarak aktarılmıştır. Bu sebepten dolayı varyant frekanslarının yüksek olduğu sonucuna ulaşılabileceği görülmüştür.

Ayrıca *MEFV* genindeki kurucu mutasyonların en önemlileri iki ve onuncu ekzonda görülenleridir. Bu ekzonlarda B.30 ve PYD domainleri bulunur ve hastalık sebebi sayılabilecek mutasyonların çoğu bu domainlerde oluşur. Bu sebeple bu ekzonlarda

görülen mutasyonların ağırlık olarak daha çok olması beklenir. Çalışma sonucunda da buna paralel bir sonuç çıkmıştır. Ekzon 2’ de 30; ekzon 10’da ise 17 tane varyant gözlemlenmiştir.

Ekzonik lokasyondaki novel varyantların fenotipte gösterdiği etkiler üzerindeki sonuçlar ise ayrıca bir tartışma konusudur. Bu varyantların 6 tanesinden 3 tanesi FMF tanı kriterlerine göre FMF hastasıdır. 1 tanesi ise olası FMF hastasıdır. Bu sonuçlar Tel-Hashomer kriterlerine göre elde edilmiştir. Bu kriterlere göre hastalık tanısı için 2 majör kriter ya da 1 majör ve 2 minör kriter olmalı. Olası tanı için ise 1 majör kriterle birlikte 1 minör kriter olmalıdır. Majör kriterler arasında; peritonit, plörit veya sinovitin eşlik ettiği ateşli epizodlar, yatkınlaştırıcı bir hastalık olmaksızın AA tipi amiloidoz, devamlı kolşisin tedavisine anlamlı yanıt aranır. Minör kriterler ise tekrarlayan ateşli ataklar, erizipel benzeri eritem, birinci derece akrabalarda FMF öyküsüdür. Çizelge 5.5’ de FMF tanısı için olumlu sonuç veren varyantlar gösterilmiştir.

Çizelge 5.6. Tel-Hashomer kriterleri doğrultusunda FMF için tanı ve olası tanılabilecek ekzonik lokasyondaki novel varyantlar

cDNA	Karın ağrısı	Sırt ağrısı	Göğüs ağrısı	Kolşisi yanıtı var mı
c.361C>A	var	var	yok	Bilgi Yok
c.1988C>A	var	var	yok	var
c.495_496delCTinsAC	var	yok	yok	var
c.30G>T	yok	yok	yok	var
cDNA	Ateş	Yakın akrabada FMF öyküsü	Amiloidoz	Eritem
c.361C>A	var	var	yok	yok
c.1988C>A	var	yok	yok	var
c.495_496delCTinsAC	var	yok	yok	yok
c.30G>T	yok	yok	var	

Pirin proteinin işlevi üzerine bazı çalışma modellerinde pirinin fosforile edebileceği üç serin rezidüsünün ekzon 10’ un içindeki Ser208, Ser209 ve Ser242 olduğu bulunmuştur. Fosforilasyonda asıl etkiyi sağlayan ise Ser242 nolu aminoasit olduğu düşünülmüştür. RhoA, pirinin 208 ve 242’deki aminoasitlerine bağlanarak bunları fosforile eder ve pirinine kinaz PKN1 ve PKN2’yi aktive eder. Bazı bakteriyel toksinler RhoAGTPaz’ın switch-1 bölgesini inaktive eder. Sonuç olarak RhoAGTPaz’ın inaktive olur ve pirin

fosforillenmez. Bu şekilde fosforilasyona uğramayan pirinlerin inflamasyonakaspaz bağımlı şekilde katılacağı ileri sürülmüştür. Bu durumda fosforilasyon içeren *in-silico* analizler çalışma açısından büyük önemi taşır. NetPhos sitesiyle yapılan fosforilasyon tahminlerine göre; modeldeki Ser208, Ser209 ve Ser242 aminoasitlerinin dönüşümünü sağlayan varyant olmadığı için bunlar açısından sonuç vermesede de novel bir varyant olan c.361C>A'nın fosforile olabileceğini göstermiştir. 121. Aminoasitteki thr; PKG, CKII olmak üzere ikikinazlafosforile olabilir. Bu varyantın aynı zamanda Tel-Hashomer kriterlerine göre de FMF tanısı koyulabilecek varyant olması önemlidir. Fosforilasyona uğrayan varyantın aynı zamanda FMF hastalığına sebep olabilecek potansiyelinin bulunması fosforilasyonun bu hastalığın gelişimi ve yönelimi konusundaki önemini vurgular.

Glikozilasyon endoplazmik retikulum'da proteinlerin katlanıp üç boyutlu yapısını kazanması, proteinlerin gerekli hücre içi kompartmanlara taşınması ve hücrelerin birbirleri ile etkileşiminde tanınma noktaları olarak rol alır. Pirin proteininin en önemli domaini pyrin/PYD domainidir. Moleküler düzlemde protein protein etkileşimleri sinyal yolları için önemli görevler içerir. Spesifik olarak bağlandığı domainler onu inflamasyon sürecinde önemli hale getirir. Bu sebeple protein üzerinde meydana gelen bir mutasyon olmaması gereken yerde glikozilasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlara sebep oluyorsa tanıma bağlanma gibi özellik gerektiren durumlarda bu spesifikliğı azaltabilir. NetOGlyc sitesinden alınan tahminlere göre novel bir varyant olan c.361C>A lokasyonundakip.Pro121Thr dönüşümü glikozilasyona uğrar. Ancak bu varyantın *in-silico* analiz sonuçları patojenik olmadığını göstermiştir. Her ne kadar *in silico* analizle bu sonuçların hastalık sebebi olabilecek varyantlar olmadığı sonucu ortaya çıksada bu sonuçlar kesin değildir. Patojenik olma ihtimalleri her zaman mevcuttur. Bunların sağlanması iyi kurgulanmış *in vivo* deneyler yapılarak da ortaya koyulabilir. Varyantın fenotipik özellikleri Tel-Hashomer kriterleriyle ilgili olduğunda bu lokasyondaki varyanta FMF tanısı koyulabileceği görülür. Bu durum glikozilasyonun FMF hastalığındaki rolünün önemini açığa çıkarır.

Çizelge 5.7'de iki post-translasyonel veri tabanında ortak olarak pozitif sonuç veren varyantlar gösterilmiştir.

Çizelge 5.7. Glikozilasyon ve Fosforilasyon tahmin sitelerinde ortak olarak etkilenen varyantlar

rs11466023	p.Pro369Ser
c.361C>A	p.Pro121Thr
rs1471371733	p.Asn127Ser
rs104895185	p.Arg151Ser

Sulfinator veri tabanı ile tirozinsülfatlama bölgeleri tahmin edilmiştir. Tirozinaminoasitine dönüşüm sağlayan aminoasit bir varyantta olduğu için bu dönüşümün sülfatlanmaya sebep olup olmayacağı araştırılmıştır. Sonuç olarak mutasyonsuz protein dizisi ile Tyr dönüşümü sağlanan dizi arasında sülfatlanmada bir farklılık oluşmadığı gözlemlenmiştir. İki durumda da sülfatlanan tek yer aminoasit dizisindeki 573. pozisyondaki tirozin olmuştur. Ve sulfinator analiz aracı sonucuna göre mutasyonlu dizi ile wild-type aminoasit dizisi arasında sülfatlanma açısından bir fark oluşmadığı gözlemlenmiştir.

SUMO, ökaryotik hücrelerde eksprese edilen önemli bir proteindir. SUMO proteinleri çok sayıda hücresel hedefe bağlanır. Böylelikle protein-protein ve protein-DNA ilişkilerini düzenler ve bu şekilde hücre içinde lokalizasyona sebep olur. Sumolasyon ise SUMO protein ailesinden birinin hedef proteinlerdeki lizin grupları ile oluşturdukları geri dönüşümlü kovalent bağları ifade etmektedir. Bu sayede anlık olarak hücre içinde konumlanması sağlanabilir. İnflamasyon karakteri gereği aniden oluşabilir ve anlık tepkiler bekler. Pirinde inflamasyonda rol aldığı için bu grup proteinle ilişkisi önemli olabilir. SUMOplotveritabanından elde edilen bilgilerle lizin dönüşümü içeren varyantlar taranarak sonuç elde edilmiştir. Ancak *MEFV* geninin wild-type dizisi ile dönüşümlerin yapıldığı dizi arasında SUMO proteinin bağlanması açısından bir fark yoktur. Sadece p.Met694Lys dönüşümünü sağlayan varyant wild-type duruma ek bir sonuç vermiştir. Bu varyantın Türk popülasyonunda en sık görülen varyantlar arasında olduğu gözlemlenmiştir.

Ubikitinasyon post-translasyonel bir modifikasyondur ve temel amacı proteinlerin işaretlenerek 26S proteozomlardegradasyona uğramasıdır. Birbirini izleyen iki yoldan oluşur. Bunlar; birden fazla ubikitin molekülü ile substratın işaretlenmesi ve

işaretlenmiş proteinin proteozom kompleksi tarafından parçalanması ve serbest ve yeniden kullanılabilir ubiquitin salınmasıdır. Ubikitin sistemine bakıldığında 3 farklı enzim yardımıyla C-terminalinden substrat proteine veya kendisine kovalent olarak bağlanmaktadır. Bunlar E1, E2 ve E3' tür. E3 içinde en büyük aile olan RING-finger içeren tipler aktif olan ubiquitini E2'den E3'e bağlı olan substrata direkt olarak taşınımını sağlar. Burada önemli noktalardan biri bu regülasyonun protein fosforilasyonuna bağlı olarak gerçekleşmesidir. Fosforilasyon E3'ün ligazı tanınmasında veya E3 enzim aktivitesinin kontrolünde rol oynayabilmektedir (Şen M ve ark. 2017). SPlA / Ryanodin (SPRY) / B30.2 domaini yüksek 52 yaygın bir motiftir. Ubikitinasyonun Pirin proteini bakımından önemi; Proteinin domainlerinden SPlA / Ryanodin (SPRY) / B30.2 domaini yüksek ökaryotlarda yaygın bir motiftir bir kısmı immün yanıtta kullanılmak üzere insan genomunun 103 SPRY domaini kodladığı bulunmuştur. Bu domaini içeren proteinlerin %45' i E3 ligazdır. Bu bakımdan UbPred ile yapılan ubiquitinasyon tahminleri önemlidir. Lizin dönüşümü sağlayan beş aminoasit arasından olumlu sonuç veren iki tane varyanttır. Bunlardan p.Met694Lys yüksek bağlanma tahmini sunar. Bu varyant onuncu ekzondadır ve B.30 domaini içerisindedir.

SumoPlot ve UbPRED veri tabanında oratık olarak

RegulomeDB, SNP'leri, H. sapiens genomunun intergenik bölgelerinde bilinen ve öngörülen düzenleyici elemanlarla açıklayan bir veri tabanıdır. Bu analiz neticesinde skorlara göre fonksiyonel sınıflandırma yapılır. Verilerde alınan sonuçlara göre 2 skor düzenleyici elemanlar açısından önemli sonuçlar verir. Bunlar 1f, 2b'dir 1f sonucunu veren varyant rs224205'tir ve intronik bir varyanttır. 2b sonucu veren varyantlardan varyantlardan 3'ü de ekzoniktir. Kodlanan bölgeler dışındaki alanların düzenleyici etkilerini bulmak önemlidir. Bu açıdan rs224205 varyantının frekansının yüksek olması sebebiyle oldukça sık rastlanan bir varyant olması ayrıca LD sonuçlarına göre bağlantılı olarak aktarılabilir olması bu varyantın düzenleyici rolü hakkında daha fazla araştırılma yapılmasını zorunlu kılar.

İnsan değişkenliğinin genetik temeli esas olarak Tek Nükleotid Polimorfizmlerinden (SNP'ler) kaynaklanmaktadır. En çok araştırılan SNP'ler proteinde hatalı dönüşüm sağlayan SNP'lerdir. SNPs&GO ile varyantların hastalık tahminleri yapılır. Varyantların her biri SNP oluşturduğu için missense değişime sebep olan varyantların incelenmesinin sonucunda 2 varyantın sonucu 'Disease' olarak tanımlanmıştır. Bulunan

sonuçlar açısından önemli olan novel varyant olarak isimlendirilen varyantlardan missense aminoasit dönüşümüne sebep olan beş varyant içinde c.965C>G (P322R) dönüşümünü sağlayan varyantın sonuç olarak ‘Disease’ yani patojenik olabileceğidir.

KAYNAKLAR

- Manukyan, G., Aminov, R. 2016.** Update on Pyrin Functions and Mechanisms of Familial Mediterranean Fever. *Front Microbiol*, 31(7):456.
- Adzhubei, I., Jordan, DM., Sunyaev, SR. 2013.** Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *CurrProtoc Hum Genet*. 76(7): 1-41.
- Adzhubei, IA., Schmidt, S., Peshkin, L., Ramensky, VE., Gerasimova, A., Bork, P., Kondrashov, AS., Sunyaev, SR. 2010.** A method and server for predicting damaging missense mutations. *NatMethods*. 7(4):248-9.
- Arend, WP., Palmer, G., Gabay, C. 2008.** IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. *ImmunolRev.*, 223:20-38.
- Awad, F., Assrawi, E., Louvrier, C., Jumeau, C., Georgin-Lavialle, S., Grateau, G., Amselem, S., Giurgea, I., Karabina, SA. 2018.** Inflammasome biology, molecular pathology and therapeutic implications. *PharmacolTher.*, 187:133-149.
- Barrett, JC., Fry, B., Maller, J., Daly, MJ. 2005.** Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2):263-5.
- Beck, K., Brodsky, B. 1998.** Supercoiled protein motifs: the collagen triple-helix and the alpha-helical coiled coil. *J Struct Biol.*, 122(1-2):17-29.
- Ben-Chetrit, E., Levy, M. 1998.** Familial Mediterranean fever. *Lancet*, 351(9103):659-64.
- Ben-Chetrit, E., Touitou, I. 2009.** Familial mediterranean Fever in the world. *ArthritisRheum.*, 61(10):1447-53.
- Bertin, J., DiStefano, PS. 2000.** The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins. *Cell Death Differ.*, 7(12):1273-4.
- Blom, N., Gammeltoft, S., Brunak, S. 1999.** Sequence and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. *J Mol Biol.*, 294(5):1351-62.
- Boyle, AP., Hong, EL., Hariharan, M., Cheng, Y., Schaub, MA., Kasowski, M., Karczewski, KJ., Park, J., Hitz, BC., Weng, S., Cherry, JM., Snyder, M. 2012.** Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *GenomeRes.*, 22(9):1790-7.
- Capriotti, E., Calabrese, R., Fariselli, P., Martelli, PL., Altman, RB., Casadio, R. 2013.** WS-SNPs&GO: a web server for predicting the deleterious effect of human protein variants using function annotation. *BMC Genomics*, 14: 1-7.
- Chae, JJ., Cho, YH., Lee, GS., Cheng, J., Liu, PP., Feigenbaum, L., Katz, SI., Kastner, DL. 2011.** Gain-of-function Pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1 β activation and severe autoinflammation in mice. *Immunity*, 34(5):755-68.

Çobankara,V., Balkarlı, A. 2011.Ailesel Akdeniz Ateşi. *Pamukkale Tıp Dergisi*,4(2):86-98.

Fonnesu, C., Cerquaglia, C., Giovinale, M., Curigliano, V., Verrecchia, E., de Socio, G., La Regina, M., Gasbarrini, G., Manna, R. 2009. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine*,76(3):227-33.

Guyton, A.C., Hall, E.J. 2007. Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye, 1113s.

Gül, H.C., Beşirbellioğlu, A.B. 2008. Şigella Türlerinde Aktin Reorganizasyonu. *FLORA*, 13(4):173-178.

Günaydın,RÖ., Kesikli, SA., Kansu, E., Hoşal, AŞ. 2012.Identification of the peripheral blood levels of interleukin-12, interleukin-10, and transforming growth factor- β in patients with laryngealsquamous cell carcinoma. *Head Neck*.,34(3):393-7.

Hashkes, PJ., Spalding, SJ., Giannini, EH., Huang, B., Johnson, A., Park, G., Barron, KS.,Weisman, MH., Pashinian, N., Reiff, AO., Samuels, J., Wright, DA., Kastner, DL., Lovell, DJ. 2012.Riloncept for colchicine-resistant or –intolerant familial Mediterranean fever: a randomized trial. *AnnInternMed.*, 157(8):533-41.

Kim, ML., Chae, JJ., Park, YH., De Nardo, D., Storzaker, RA., Ko, HJ., Tye, H., Cengia, L., DiRago, L., Metcalf, D., Roberts, AW., Kastner, DL., Lew, AM., Lyras, D., Kile, BT., Croker, BA., Masters, SL. 2015. Aberrant actin depolymerization triggers the pyrin inflammasome and autoinflammatory disease that is dependent on IL-18, not IL-1 β . *J Exp Med.*, 212(6):927-38.

Klausen,MS., Jespersen, MC., Nielsen, H., Jensen, KK., Jurtz, VI., Sønderby, CK., Sommer,MOA., Winther, O., Nielsen, M., Petersen, B., Marcatili, P.2019. NetSurfP-2.0: Improved prediction of protein structural features byin tegrated deeplearning. *Proteins*. 87(6):520-527.

Kone-Paut, I., Hentgen, V., Touitou, I. 2011. Current data on familial mediterranean fever. *Joint Bone Spine*, 78(2): 111-4.

Koşan, C. 2003. Ailevi Akdeniz Ateşi' ne Tanısal Yaklaşım. *AÜTD.*,35: 1-6.

Kumar, P., Henikoff, S., Ng, PC. 2009. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *NatProtoc.*, 4(7):1073-81.

Mansfield, E., Chae, JJ., Komarow, HD., Brotz, TM., Frucht, DM., Aksentijevich, I.,Kastner,DL. 2001. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments. *Blood*, 98(3):851-9.

Migita, K., Izumi, Y., Jiuchi, Y., Iwanaga, N., Kawahara, C., Agematsu, K., Yachie, A.,Masumoto, J., Fujikawa, K., Yamasaki, S., Nakamura, T., Ubara, Y.,

Koga, T., Nakashima, Y., Shimizu, T., Umeda, M., Nonaka, F., Yasunami, M., Eguchi, K., Yoshiura, K., Kawakami, A. 2016.Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Japan. *Arthritis Res.*,30;18:175.

Mitroulis, I., Skendros, P., Oikonomou, A., Tzioufas, AG., Ritis, K. 2011.The efficacy of canakinumab in the treatment of a patient with familial Mediterranean fever and long standing destructive arthritis. *Ann Rheum Dis.*,70(7):1347-8.

Monigatti, F., Gasteiger, E., Bairoch, A., Jung, E. 2002.The Sulfinator: predicting tyrosine sulfation sites in protein sequences. *Bioinformatics*, 18(5):769-70.

Ng, PC., Henikoff, S. 2001.Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res.*, 11(5):863-74.

Oke, V., Wahren-Herlenius, M., 2012. The immunobiology of Ro52 (TRIM21) in autoimmunity: a critical review. *J Autoimmun.* 39(1-2):77-82.

Ozdemir, O., Sezgin, I., Kurtulgan, HK., Candan, F., Koksall, B., Sumer, H., Icgasioglu, D., Uslu, A., Yildiz, F., Arslan, S., Cetinkaya, S., Citli, S., Oztemur, Z., Kayatas, M. 2011.Prevalence of known mutations in the MEFV gene in a population screening with high rate of carriers. *Mol Biol Rep.*,38(5):3195-200.

Ozdogan, H., Ugurlu, S. 2019.Familial Mediterranean Fever. *Presse Med.*,48(1Pt 2):e61-e76

Pålsson-McDermott, EM., O'Neill, LA. 2007.Building an immune system from nine domains. *Biochem Soc Trans.*, 35(Pt 6):1437-44.

Papin, S., Duquesnoy, P., Cazeneuve, C., Pantel, J., Coppey-Moisan, M., Dargemont, C., Amselem, S. 2000.Alternatives splicing at the *MEFV* locus involved in familial Mediterranean fever regulate the translocation of the merozoitin/pyrin protein to the nucleus. *Hum Mol Genet.*,9(20):3001-9.

Perfetto, L., Gherardini, PF., Davey, NE., Diella, F., Helmer-Citterich, M., Cesareni, G. 2013. Exploring the diversity of SPRY/B30.2-mediated interactions. *Trends Biochem Sci.*,38(1):38-46.
Petersen B ve ark.2009).

Petrushkin, H., Stanford, M., Fortune, F., Jawad, AS. 2016.Clinical Review: Familial Mediterranean Fever-An Overview of Pathogenesis, Symptoms, Ocular Manifestations, and Treatment. *Ocul Immunol Inflamm.*, 24(4):422-30.

Radivojac, P., Vacic, V., Haynes, C., Cocklin, RR., Mohan, A., Heyen, JW., Goebel, MG., Iakoucheva, LM. 2010.Identification, analysis, and prediction of protein ubiquitination sites. *Proteins*, 78(2):365-80.

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, WW., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, HL. 2015. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the

interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.*,17(5):405-24.

Shoham, NG., Centola, M., Mansfield, E., Hull, KM., Wood, G., Wise, CA., Kastner, DL. 2003. Pyrin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 100(23):13501-6.

Stentoft, C., Vakhrushev, SY., Joshi, HJ., Kong, Y., Vester-Christensen, MB., Schjoldager, KT., Lavrsen, K., Dabelsteen, S., Pedersen, NB., Marcos-Silva, L., Gupta, R., Bennett, EP., Mandel, U., Brunak, S., Wandall, HH., Levery, SB., Clausen, H. 2013. Precision mapping of the human O-GalNAc glycoproteome through Simple Cell technology. *EMBO J.*, 32(10):1478-88.

The International FMF Consortium, 1997. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell*, 90(4):797-807.

Torok, M., Etkin, LD. 2001. Two B or not two B? Overview of the rapidly expanding B-box family of proteins. *Differentiation*, 67(3):63-71.

Touitou, I. 2012. New genetic interpretation of old diseases. *Autoimmun Rev.*, 12(1):5-9.
Ugan, Y., Ermiş, F., Şahin, M. 2011. Ailesel Akdeniz Ateşi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 18(4):139-143.

Van Gijn, ME., Ceccherini, I., Shinar, Y., Carbo, EC., Slofstra, M., Arostegui, JI., Sarrabay, G., Rowczenio, D., Omoyimni, E., Balci-Peynircioglu, B., Hoffman, HM., Milhavet, F., Swertz, MA., Touitou, I. 2018. New work flow for classification of genetic variants' pathogenicity applied to hereditary recurrent fevers by the International Study Group for Systemic Autoinflammatory Diseases (INSAID). *J Med Genet.*, 55(8):530-537.

Yilmaz, E., Ozen, S., Balci, B., Duzova, A., Topaloglu, R., Besbas, N., Saatci, U., Bakkaloglu, A., Ozguc, M. 2001. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet.*, 9(7):553-5.

Zemer, D., Revach, M., Pras, M., Modan, B., Schor, S., Sohar, E., Gafni, J. 1974. A controlled trial of colchicine in preventing attacks of familial mediterranean fever. *N Engl J Med.*, 291(18):932-4.

EKLER

- EK-1** Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve Frekanssonuçları
- EK-2** Çalışma sonucunda İnfevers veri tabanı ile ortak olarak bulunan varyantlar
- EK-3** Novel varyantların fenotipler

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları

Lokasyon	rsno	Amino asid değişimi	cDNA
3306558	*c.30G>T	p.Leu10Leu	c.30G>T
3306546	rs113314808	p.Glu14Glu	c.42G>A
3306396	rs547393490	p.Glu64Glu	c.192G>A
3306393	rs104895077	p.Tyr65Tyr	c.195C>T
3306323	rs104895124	p.Ala89Thr	c.265G>A
3306254	*c.277+57A>C	N/A	c.277+57A>C
3304779	rs747515115	p.Gln97Lys	c.289C>A
3304762	rs224225	p.Asp102Asp	c.306T>C
3304739	rs11466018	p.Leu110Pro	c.329T>C
3304707	*c.361C>A	p.Pro121Thr	c.361C>A
3304696	rs104895078	p.Pro124Pro	c.372C>T
3304690	rs777867857	p.Gly126Gly	c.378G>T
3304688	<u>rs1471371733</u>	p.Asn127Ser	c.380A>G
3304654	rs224224	p.Gly138Gly	c.414A>G
3304646	rs104895130	p.Ser141Ile	c.422G>T
3304626	rs3743930	p.Glu148Gln	c.442G>C
3304625	rs104895076	p.Glu148Val	c.443A>T
3304615	rs104895185	p.Arg151Ser	c.453G>C
3304608	rs756975501	p.Ser154Pro	c.460T>C
3304573	rs224223	p.Ala165Ala	c.495C>A
3304572	*c.495_496delCTinsAC	p.Ser166Pro	c.495_496delCTinsAC
3304567	rs104895079	p.Glu167Asp	c.501G>C
3304482	rs104895179	p.Gly196Trp	c.586G>T
3304463	rs224222	p.Arg202Gln	c.605G>A
3304411	rs104895182	p.Gly219Gly	c.657C>T
3304393	rs104895181	p.Glu225Asp	c.675G>C
3304380	rs104895080	p.Glu230Lys	c.688G>A
3304342	rs104895127	p.Ser242Ser	c.726C>T
3304317	rs104895111	p.Glu251Lys	c.751G>A
3304303	rs104895138	p.Asn256Argfs*70	c.761_764dupCCGC
3304293	rs104895144	p.Ile259Val	c.775A>G
3304268	rs104895081	p.Thr267Ile	c.800C>T
3304220	rs104895119	p.Pro283Arg	c.848C>G
3304205	rs387907567	p.Ser288Tyr	c.863C>A
3304165	<u>rs1294106083</u>	p.Ser301Ser	c.903G>T

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları(devamı)

Lokasyon	SIFT	MT	PP2	RDB	ACMG	MAF	gnomAD
3306558	T	DC	N/A	2b	VUS	0.0003	N/A
3306546	T	DC	N/A	4	LB	0.0003	0.001110
3306396	N/A	P	N/A	5	VUS	0.0003	0.0001627
3306393	T	P	N/A	5	VUS	0.0003	0.0001592
3306323	D	P	PRD	5	VUS	0.001	0.00001208
3306254	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.0003	N/A
3304779	N/A	P	B	N/A	LP	0.0003	0.00005708
3304762	T	P	N/A	N/A	B	0.413	0.4477
3304739	T	P	PSD	5	VUS	0.003	0.006366
3304707	T	P	B	5	VUS	0.0003	N/A
3304696	T	P	N/A	5	VUS	0.001	0.0003347
3304690	N/A	P	N/A	5	VUS	0.0003	0.00001801
3304688	N/A	P	B	5	VUS	0.0003	0.000
3304654	T	P	N/A	5	VUS	0.411	0.4443
3304646	D	P	B	5	VUS	0.0003	0.000008411
3304626	D	P	PRD	5	B	0.055	0.06576
3304625	D	P	PRD	5	VUS	0.002	0.00007154
3304615	D	P	B	5	VUS	0.0003	0.00006901
3304608	T	P	B	5	VUS	0.0003	0.00003827
3304573	T	P	N/A	5	B	0.412	0.4368
3304572	N/A	N/A	B	5	VUS	0.0003	N/A
3304567	T	DC	PSD	5	VUS	0.001	0.00004693
3304482	D	P	PSD	5	VUS	0.0003	0.001661
3304463	T	P	B	5	B	0.263	0.2354
3304411	T	P	N/A	5	VUS	0.001	0.00007870
3304393	T	P	B	5	VUS	0.0003	0.000008063
3304380	D	P	B	5	VUS	0.001	0.0006288
3304342	N/A	DC	N/A	5	VUS	0.001	0.000007960
3304317	D	P	B	N/A	P	0.002	0.000003978
3304303	N/A	N/A	N/A	N/A	LP	0.0003	0.000007955
3304293	T	P	B	N/A	VUS	0.0003	0.00003182
3304268	T	DC	PSD	6	VUS	0.001	0.0001485
3304220	T	P	B	N/A	VUS	0.0003	0.00001989
3304205	D	P	PSD	N/A	VUS	0.0003	0.000007956

*MT: MutationTaster(P: Polymorphism, DC: Diseasecausing)

*PP2:Polyphen(B:Bening, PSD:PossiblyDamaging, PR: *ProbablyDamaging)

*SIFT: T:Tolerated, D: Deleterious

*RDB:RegulomeDB

*P:pathogenic

*LP:likelypathogenic

*VUS: uncertain significance

*LB:likelybenign

*B:benign olarak ayrılır

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları(devam)

Lokasyon	rsno	Amino asid değişimi	cDNA
3304158	rs75977701	p.Gly304Arg	c.910G>A
3299858	rs11466021	N/A	c.911-78T>C
3299750	rs104895204	p.Arg314His	c.941G>A
3299749	rs224213	p.Arg314Arg	c.942C>T
3299726	*c.965C>G	p.Pro322Arg	c.965C>G
3299686	rs567739580	p.Pro335Pro	c.1005C>T
3299675	rs104895157	p.Ser339Phe	c.1016C>T
3299586	rs11466023	p.Pro369Ser	c.1105C>T
3299561	rs144998416	p.Arg377His	c.1130G>A
3299525	rs786205886	p.Asp389Val	c.1166A>T
3299477	*c.1214A>G	p.Gln405Arg	c.1214A>G
3299468	rs11466024	p.Arg408Gln	c.1223G>A
3299446	rs104895195	p.Val415Val	c.1245C>T
3299063	<u>rs1262543397</u>	N/A	c.1261-59C>T
3299032	rs104895140	N/A	c.1261-28A>G
3298878	rs142775938	N/A	c.1356+31G>T
3298865	rs224212	N/A	c.1356+44A>G
3297301	*c.1357-55A>G	N/A	c.1357-55A>G
3297233	rs104895151	p.Ala457Val	c.1370C>T
3297181	rs224208	p.Glu474Glu	c.1422G>A
3297175	rs224207	p.Gln476Gln	c.1428A>G
3297166	rs104895083	p.Phe479Leu	c.1437C>G
3297136	rs61732424	p.Gln489Gln	c.1467G>A
3297100	rs76464258	p.Arg501Arg	c.1503C>T
3297085	rs104895099	p.Ile506Ile	c.1518C>T
3297075	rs200557537	p.Asp510Asn	c.1528G>A
3297073	rs224206	p.Asp510Asn	c.1530T>C
3296983	rs146820856	N/A	c.1587+33C>G
3296744	<u>rs991727292</u>	N/A	c.1588-
3296677	*c.1588-130C>T	N/A	c.1588-
3296631	*c.1588-84T>C	N/A	c.1588-84T>C
3296616	rs224205	N/A	c.1588-69G>A
3296478	rs56260135	N/A	c.1610+47A>C
3294678	rs1231124	N/A	c.1611-90C>T
3294628	*c.1611-41dupC	N/A	c.1611-41dupC
3294579	rs569998874	p.Thr540Thr	c.1620A>T
3294449	rs151101633	N/A	c.1726+24G>A
3294445	*c.1726+28G>A	N/A	c.1726+28G>A

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları(devam)

Lokasyon	SIFT	MT	PP2	RDB	ACMG	Haploview	gnomAD
3304158	T	P	B	6	VUS	0.001	0.004685
3299858	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.006	0.01086
3299750	T	P	B	5	VUS	0.0003	0.00008869
3299749	T	P	N/A	5	B	0.483	0.6267
3299726	D	P	PSD	N/A	VUS	0.0003	N/A
3299686	N/A	P	N/A	6	VUS	0.0003	0.000008067
3299675	T	P	PRD	6	VUS	0.001	0.0001789
3299586	T	P	PRD	N/A	VUS	0.013	0.0147
3299561	T	P	PSD	N/AA	VUS	0.0003	0.00003184
3299525	N/A	DC	PRD	5	VUS	0.0003	N/A
3299477	T	P	B	5	VUS	0.001	N/A
3299468	T	P	B	5	VUS	0.012	0.01336
3299446	T	P	N/A	5	VUS	0.001	0.0004908
3299063	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.0003	0.00006369
3299032	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.001	0.007004
3298878	N/A	N/A	N/A	5	LB	0.001	0.001446
3298865	N/A	N/A	N/A	5	B	0.493	0.6083
3297301	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.0003	N/A
3297233	D	P	B	5	VUS	0.001	0.0002546
3297181	T	P	N/A	5	B	0.5	0.6018
3297175	T	P	N/A	5	B	0.496	0.6049
3297166	T	DC	B	5	VUS	0.001	0.00004242
3297136	T	P	N/A	5	LB	0.001	0.003687
3297100	T	P	N/A	5	LB	0.01	0.01202
3297085	T	P	N/A	5	VUS	0.001	0.0001520
3297075	D	P	PRD	5	VUS	0.0003	0.0001352
3297073	T	P	N/A	5	B	0.494	0.6101
3296983	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.001	0.002001
3296744	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.002	0.0001594
3296677	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.0003	N/A
3296631	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.0003	N/A
3296616	N/A	N/A	N/A	1f	B	0.444	0.4718
3296478	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.001	0.002708
3294678	N/A	N/A	N/A	N/A	B	0.496	0.4127
3294628	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.0003	N/A
3294579	N/A	P	N/A	5	VUS	0.0003	0.000003978
3294449	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.0003	N/A
3294445	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.0003	N/A

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları(devamı)

Lokasyon	Rsno	Aminoasit değişimi	cDNA
3294436	rs1255044091	N/A	c.1726+37C>T
3294246	rs77380520	N/A	c.1759+8C>T
3294239	*c.1759+15A>G	N/A	c.1759+15A>G
3294155	rs763711859	N/A	c.1759+99A>C
3294042	rs558918145	N/A	c.1760-150T>C
3294013	rs753528872	N/A	c.1760-121A>G
3293980	rs536557865	N/A	c.1760-88G>T
3293922	rs1231123	N/A	c.1760-30T>A
3293888	rs1231122	p.Pro588Pro	c.1764G>A
3293880	rs11466045	p.Ile591Thr	c.1772T>C
3293824	rs1468410559	N/A	c.1792+36G>C
3293821	rs104895176	N/A	c.1792+39G>A
3293797	rs144900416	N/A	c.1792+63C>T
3293796	rs558656636	N/A	c.1792+64G>A
3293669	rs104895213	p.Thr606Thr	c.1818C>T
3293593	rs104895128	p.Gly632Ser	c.1894G>A
3293499	*c.1988C>A	p.Thr663Lys	c.1988C>A
3293447	rs28940580	p.Met680Ile	c.2040G>C
3293438	rs104895092	p.Ser683Ser	c.2049G>A
3293432	rs375378545	p.Glu685Glu	c.2055G>A
3293407	rs61752717	p.Met694Val	c.2080A>G
3293406	c.2081T>A	p.Met694Lys	c.2081T>A
3293405	rs28940578	p.Met694Ile	c.2082G>A
3293403	rs104895094	p.Lys695Arg	c.2084A>G
3293369	rs2234939	p.Pro706Pro	c.2118G>A
3293323	rs104895201	p.Val722Met	c.2164G>A
3293310	rs28940579	p.Val726Ala	c.2177T>C
3293282	rs375450800	p.Thr735Thr	c.2205A>G
3293257	rs61732874	p.Ala744Ser	c.2230G>T
3293206	rs774807554	p.Arg761Cys	c.2281C>T
3293205	rs104895097	p.Arg761His	c.2282G>A

EK-1: Hastalarda belirlenmiş olan tüm varyantların in silico analiz ve frekans sonuçları(devamı)

Lokasyon	SIFT	MT	PP2	RDB	ACMG	Haploview	gnomAD
3294436	N/A	N/A	N/A	6	VUS	0.0003	0.000003977
3294246	N/A	N/A	N/A	4	LB	0.006	0.008931
3294239	N/A	N/A	N/A	4	VUS	0.0003	N/A
3294155	N/A	N/A	N/A	3a	VUS	0.0003	0.00001767
3294042	N/A	N/A	N/A	4	VUS	0.0003	0.00001077
3294013	N/A	N/A	N/A	4	VUS	0.001	0.0003010
3293980	N/A	N/A	N/A	4	VUS	0.0003	0.00009859
3293922	T	N/A	N/A	5	VUS	0.487	0.3766
3293888	T	P	N/A	5	P	0.497	0.3939
3293880	T	P	B	5	VUS	0.004	0.01089
3293824	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.001	0.000003990
3293821	N/A	N/A	N/A	5	VUS	0.001	0.001653
3293797	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.001	0.00003185
3293796	N/A	N/A	N/A	N/A	VUS	0.001	0.00009561
3293669	T	DC	N/A	5	VUS	0.001	0.00002532
3293593	T	P	B	5	LP	0.001	0.00003637
3293499	T	DC	PRD	6	VUS	0.0003	N/A
3293447	T	P	B	N/A	P	0.024	0.0001034
3293438	T	DC	N/A	N/A	VUS	0.0003	0.00004949
3293432	T	DC	N/A	N/A	VUS	0.001	0.00001591
3293407	T	P	PSD	6	P	0.106	0.0002722
3293406	T	P	PSD	6	LP	0.0003	N/A
3293405	T	DC	PSD	6	P	0.005	0.0001273
3293403	T	P	PSD	6	LP	0.007	0.005826
3293369	T	P	N/A	5	LB	0.002	0.004119
3293323	T	P	PSD	5	VUS	0.0003	0.00001414
3293310	T	DC	B	5	VUS	0.033	0.001983
3293282	T	P	N/A	3a	VUS	0.0003	0.000007953
3293257	T	P	B	3a	VUS	0.008	0.001764
3293206	N/A	P	PSD	2b	VUS	0.0003	0.00004773
3293205	T	DC	B	2b	VUS	0.009	0.0002051

EK-2: Çalışma sonucunda Infevers veri tabanı ile ortak olarak bulunan varyantlar

c.195C>T	c.848C>G	c.1759+8C>T
c.265G>A	c.863C>A	c.1760-30T>A
c.289C>T	c.910G>A	c.1764G>A
c.306T>C	c.911-78T>C	c.1772T>C
c.329T>C	c.941G>A	c.1792+39G>A
c.372C>T	c.942C>T	c.1818C>T
c.414A>G	c.1016C>T	c.1894G>A
c.422G>T	c.1105C>T	c.2040G>C
c.442G>C	c.1166A>T	c.2049G>A
c.443A>T	c.1223G>A	c.2080A>G
c.453G>C	c.1245C>T	c.2081T>A
c.460T>C	c.1261-28A>G	c.2082G>A
c.495C>A	c.1356+44A>G	c.2084A>G
c.501G>C	c.1370C>T	c.2118G>A
c.586G>T	c.1422G>A	c.2164G>A
c.605G>A	c.1428A>G	c.2177T>C
c.657C>T	c.1437C>G	c.2230G>T
c.675G>C	c.1467G>A	c.2281C>T
c.688G>A	c.1503C>T	c.2282G>A
c.726C>T	c.1518C>T	
c.751G>A	c.1528G>A	
c.761_764dupCCGC	c.1530T>C	
c.775A>G	c.1587+33C>G	
c.800C>T	c.1588-69G>A	

Ek-3: Novel varyantların fenotipleri

cDNA (NM_000243)	Cinsiyet	Hasta yaşı	Şikayetlerin başlangıç yaşı	Karın ağrısı	Ateş	Artralji/Artrit
c.1726+28G>A	K	28	Çocuğunda FMF şikayeti var	yok	yok	Yok
c.1759+15A>G	E	5	2-2,5	yok	var	yok
c.361C>A	E	13	7	var	var	var
c.277+57A>C	E	10	8	yok	yok	yok
c.1988C>A	K	18	8-10 y	var	var	yok
c.1611-41dupC	E	45	44	var	var	yok
c.1357-55A>G	K	5	3	var	var	var
c.495_496delCTinsAC	E	4	3	var	var	yok
c.1588-84T>C	E	13	10	var	var	var
c.1588-130C>T	E	16	14	yok	var	var
c.965C>G	K	8	7	yok	yok	var
c.30G>T	E	35	33	yok	yok	var
c.1214A>G	K	8	?	yok	yok	yok
c.1214A>G	E	41	?	yok	yok	yok
cDNA (NM_000243)	Atak sıklığı	Atak süresi (gün)	Sırt ağrısı	Göğüs ağrısı	Kabızlık/İshal-İBS	
c.1726+28G>A	yok	yok	Yok	Yok	Yok	
c.1759+15A>G	yılda 1	1 gün	yok	yok	yok	
c.361C>A	2 hf	1	var	yok	yok	
c.277+57A>C	yok	yok	yok	yok	yok	
c.1988C>A	?	?	var	yok	yok	
c.1611-41dupC	?	?	yok	yok	yok	
c.1357-55A>G	1 gün	1 saat	yok	yok	yok	
c.495_496delCTinsAC	?	?	yok	yok	yok	
c.1588-84T>C	yok	yok	yok	yok	yok	
c.1588-130C>T	?	?	yok	yok	yok	
c.965C>G	2ay	1 gün	yok	yok	yok	
c.30G>T	?	?	yok	yok	yok	
c.1214A>G	?	?	yok	yok	yok	
c.1214A>G	?	?	yok	yok	yok	
cDNA (NM_000243)	Akut batın nedeniyle laparotomiyüksü	Yakın akrabada FMF öyküsü	Yakın akrabada Böbrek yetmezliği öyküsü	Anne-baba akrabalık derecesi	Kolşisin kullanımı var mı	Kolşisine yanıt var mı
c.1726+28G>A	?	Var	?	?	?	?
c.1759+15A>G	?	?	?	akraba	?	?
c.361C>A	yok	var	?	akraba	var	?
c.277+57A>C	yok	yok	yok	yok	yok	?
c.1988C>A	?	yok	yok	yok	var	var
c.1611-41dupC	yok	var	yok	?	?	?
c.1357-55A>G	yok	var	yok	akraba	var	yok
c.495_496delCTinsAC	yok	yok	yok	?	var	var
c.1588-84T>C	yok	var	yok	yok	var	var
c.1588-130C>T	yok	yok	yok	kuzen	yok	yok
c.965C>G	yok	var	yok	akraba	yok	yok
c.30G>T	yok	yok	yok	?	var	var
c.1214A>G	yok	var	yok	?	yok	yok
c.1214A>G	yok	var	yok	?	yok	yok

EK- 4: Çalışma Sonucunda Elde Edilen Tüm Varyantların SIFT/Mutation Taster ve Polyphen2 Veri Tabanlarıdaki Ortak Sonuçlarının ACMG Veri Tabanı ile Karşılaştırılması

Kromozom lokasyonu	rs no	Aminoasit değişimi	SIFT	Mutation Taster	Polyphen	ORTAK SONUÇ	ACMG
3306558	c.30G>T	p.= (p.Leu10Leu)	TOLERATED	disease causing			Uncertain Significance
3306546	rs113314808	p.Glu14Glu	TOLERATED	disease causing		VUS	Likely Benign
3306396	rs547393490	p.Glu64Glu	not found	polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3306393	rs104895077	p.Tyr65Tyr	TOLERATED	polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3306323	rs104895124	p.Ala89Thr	DELETERIOUS	polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3306254	c.277+57A>C					VUS	Uncertain Significance
3304779	rs747515115	p.Gln97Lys	not found	polymorphism	BENIGN	VUS	Likely Pathogenic
3304762	rs224225	p.Asp102Asp	TOLERATED	polymorphism		VUS	Benign
3304739	rs11466018	p.Leu110Pro	TOLERATED	polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304707	c.361C>A	p.Pro121Thr	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3304696	rs104895078	p.Pro124Pro	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3304690	rs777867857	p.Gly126Gly	not found	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3304688	rs1471371733	p.Asn127Ser		Polymorphism	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3304654	rs224224	p.Gly138Gly	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3304646	rs104895130	p.Ser141Ile	DELETERIOUS	Polymorphism	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3304626	rs3743930	p.Glu148Gln	DELETERIOUS	Polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Benign
3304625	rs104895076	p.Glu148Val	DELETERIOUS	Polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304615	rs104895185	p.Arg151Ser	DELETERIOUS	Polymorphism	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3304608	rs756975501	p.Ser154Pro	Tolerated	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3304573	rs224223	p.Ala165Ala	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Benign
3304572	c.495_496delCTinsA C	p.Ser166Pro			BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3304567	rs104895079	p.Glu167Asp	TOLERATED	disease causing	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304482	rs104895179	p.Gly196Trp	DELETERIOUS	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304463	rs224222	p.Arg202Gln	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Benign
3304411	rs104895182	p.Gly219Gly	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3304393	rs104895181	p.Glu225Asp	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3304380	rs104895080	p.Glu230Lys	DELETERIOUS	Polymorphism	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3304342	rs104895127	p.Ser242Ser	not found	disease causing		VUS	Uncertain Significance
3304317	rs104895111	p.Glu251Lys	DELETERIOUS	Polymorphism	BENIGN	VUS	Pathogenic
3304303	rs104895138	p.Asn256Argfs*70	not found			VUS	Likely Pathogenic
3304293	rs104895144	p.Ile259Val	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3304268	rs104895081	p.Thr267Ile	TOLERATED	disease causing	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304220	rs104895119	p.Pro283Arg	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3304205	rs387907567	p.Ser288Tyr	DELETERIOUS	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3304165	rs1294106083	p.Ser301Ser	N/A	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3304158	rs75977701	p.Gly304Arg	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3299858	rs11466021					VUS	Uncertain Significance
3299750	rs104895204	p.Arg314His	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENİNG	Uncertain Significance
3299749	rs224213	p.Arg314Arg	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Benign
3299726	c.965C>G	p.Pro322Arg	DAMAGING	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3299686	rs567739580	p.Pro335Pro	not found	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance

EK- 4: Çalışma Sonucunda Elde Edilen Tüm Varyantların SIFT/Mutation Taster ve Polyphen2 Veri Tabanlarıdaki Ortak Sonuçlarının ACMG Veri Tabanı ile Karşılaştırılması (devam)

3299675	rs104895157	p.Ser339Phe	TOLERATED	Polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3299586	rs11466023	p.Pro369Ser	TOLERATED	Polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3299561	rs144998416	p.Arg377His	TOLERATED	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3299525	rs786205886	p.Asp389Val	Not found	Disease causing	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3299477	c.1214A>G	p.Gln405Arg	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Uncertain Significance
3299468	rs11466024	p.Arg408Gln	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Uncertain Significance
3299446	rs104895195	p.Val415Val	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3299063	rs1262543397					VUS	Uncertain Significance
3299032	rs104895140					VUS	Uncertain Significance
3298878	rs142775938					VUS	Likely Benign
3298865	rs224212					VUS	Benign
3297301	c.1357-55A>G					VUS	Uncertain Significance
3297233	rs104895151	p.Ala457Val	DELETERIOUS	Polymorphism	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3297181	rs224208	p.Glu474Glu	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Benign
3297175	rs224207	p.Gln476Gln	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Benign
3297166	rs104895083	p.Phe479Leu	TOLERATED	Disease causing	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3297136	rs61732424	p.Gln489Gln	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Likely Benign
3297100	rs76464258	p.Arg501Arg	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Likely Benign
3297085	rs104895099	p.Ile506Ile	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3297075	rs200557537	p.Asp510Asn	DELETERIOUS	Polymorphism	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3297073	rs224206	p.Asp510Asp	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Benign
3296983	rs146820856					VUS	Uncertain Significance
3296744	rs991727292					VUS	Uncertain Significance
3296677	c.1588-130C>T					VUS	Uncertain Significance
3296631	c.1588-84T>C					VUS	Uncertain Significance
3296616	rs224205					VUS	Benign
3296478	rs56260135					VUS	Uncertain Significance
3294678	rs1231124					VUS	Benign
3294628	c.1611-41dupC					VUS	Uncertain Significance
3294579	rs569998874	p.Thr540Thr	N/A	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3294449	rs151101633					VUS	Uncertain Significance
3294445	c.1726+28G>A					VUS	Uncertain Significance
3294436	rs1255044091					VUS	Uncertain Significance
3294246	rs77380520					VUS	Likely Benign
3294239	c.1759+15A>G					VUS	Uncertain Significance
3294155	rs763711859					VUS	Uncertain Significance
3294042	rs558918145					VUS	Uncertain Significance
3294013	rs753528872					VUS	Uncertain Significance
3293980	rs536557865					VUS	Uncertain Significance
3293922	rs1231123		TOLERATED			VUS	Uncertain Significance
3293888	rs1231122	p.Pro588Pro	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Pathogenic
3293880	rs11466045	p.Ile591Thr	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Uncertain Significance
3293824	rs1468410559					VUS	Uncertain Significance

EK- 4: Çalışma Sonucunda Elde Edilen Tüm Varyantların SIFT/Mutation Taster ve Polyphen2 Veri Tabanlarıdaki Ortak Sonuçlarının ACMG Veri Tabanı ile Karşılaştırılması (devam)

3293821	rs104895176					VUS	Uncertain Significance
3293797	rs144900416					VUS	Uncertain Significance
3293796	rs558656636					VUS	Uncertain Significance
3293669	rs104895213	p.Thr606Thr	TOLERATED	Disease causing		VUS	Uncertain Significance
3293593	rs104895128	p.Gly632Ser	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Likely Pathogenic
3293499	c.1988C>A	p.Thr663Lys	TOLERATED	Disease causing	PROBABLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3293447	rs28940580	p.Met680Ile	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Pathogenic
3293438	rs104895092	p.Ser683Ser	TOLERATED	Disease causing		VUS	Uncertain Significance
3293432	rs375378545	p.Glu685Glu	TOLERATED	Disease causing		VUS	Uncertain Significance
3293407	rs61752717	p.Met694Val	TOLERATED	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Pathogenic
3293406	c.2081T>A(İnfevasta bulunan)	p.Met694Lys	TOLERATED	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Likely Pathogenic
3293405	rs28940578	p.Met694Ile	TOLERATED	Disease causing	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Pathogenic
3293403	rs104895094	p.Lys695Arg	TOLERATED	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Likely Pathogenic
3293369	rs2234939	p.Pro706Pro	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Likely Benign
3293323	rs104895201	p.Val722Met	TOLERATED	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3293310	rs28940579	p.Val726Ala	TOLERATED	Disease causing	BENIGN	VUS	Uncertain Significance
3293282	rs375450800	p.Thr735Thr	TOLERATED	Polymorphism		VUS	Uncertain Significance
3293257	rs61732874	p.Ala744Ser	TOLERATED	Polymorphism	BENIGN	BENING	Uncertain Significance
3293206	rs774807554	p.Arg761Cys	not found	Polymorphism	POSSIBLY DAMAGING	VUS	Uncertain Significance
3293205	rs104895097	p.Arg761His	TOLERATED	Disease causing	BENIGN	VUS	Uncertain Significance

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad :Zeynep Kurt
Doğum Yeri ve Tarihi :28.10.1993/ Erzurum
Eğitim Durumu :
Lise :Nevzat Karabağ Anadolu Öğretmen Lisesi
Lisans: :Erzurum Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve
Genetik
:Uludağ Üniversitesi Hukuk Fakültesi
İletişim :zeynepkurt93@gmail.com
Yayımları :

Kaya, N., Kurt, Z., Aliyeva, L., Kablan, A., Özemri Sağ, Ş., Yıldırım Uz, E., Pirim, D., Temel, Ş.G. 2018.Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) Semptomları Taşıyan Hastalarda Yeni Nesil Dizileme Metodu ile MEFV Genindeki Yaygın ve Yeni Varyantların Taranması. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi , 7-11 Kasım 2018, Rixos Premium Belek, Antalya.

Aliyeva, L., Kaya, N., Kurt, Z., Kablan, A., Özemri Sağ, Ş., Yıldırım Uz, E., Pirim, D., Temel, Ş.G. 2018. BRCA1 ve BRCA2 Genlerinde Meme ve Over Kanseri ile İlişkili Yeni Varyantların Saptanması ve Analizleri. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi , 7-11 Kasım 2018, Rixos Premium Belek, Antalya.

Pirim, D.,Yıldırım Uz, E.,Kaya, N.,Kurt, Z., Ulusoy, E. 2019. AssessingtheFunctionalProperties of the TMCO1 SequenceVariantsby Using InSilicoAnalyses. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(3): 1931 – 1946

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Zeynep KURT
Tez Adı	MEFV GEN MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLERDE YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLMİŞ YAYGIN VE YENİ VARYANTLARIN VERİ TABANLARINDA ANALİZLERİ: RETROSPEKTİF ÇALIŞMA
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Tez Türü	Tezli Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Dr.Öğr. Üyesi. Elif UZ Doç. Dr.Şebnem ÖZEMRİ SAĞ
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	<input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih : 17.09.2019

İmza : 