

MEFV VE HLA-B27 GEN ANALİZİNİN MEAN PLATELET VOLÜM DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİ

THE RELATIONSHIP OF MEAN PLATELET VOLUME LEVELS WITH MEFV AND HLA-B27 GENE ANALYSIS

Dr. Kübranur ÜNAL*
 Dr. Serpil ERDOĞAN**
 Dr. Fatma Meriç YILMAZ* ,***
 Dr. Gönül ERDEN****
 Dr. Sevilay SEZER*
 Dr. Büşranur ÇAVDARLI*****
 Dr. Zeynep ÖZBALKAN*****
 Dr. Yaşar KARAASLAN*****
 Dr. Yüksel KOCA*

* Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği

** Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği

*** Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

**** Ankara Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği

***** Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Kliniği

***** Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Romatoloji Kliniği

Yazışma Adresi/Correspondence:

Dr. Kübranur ÜNAL
 Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı
 06300, Samanpazarı, Ankara, Türkiye
 Tel.: +90 312 508 4428
 Fax : +90 312 312 534
 E-posta:
 dr.kubranur_karatoprak@hotmail.com

ÖZET

Amaç: Dolaşımdaki platelet boyutunun (MPV) sistemik inflamasyon şiddeti ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada amacımız, MEFV (Mediterranean FeVer) ve HLA-B27 gen analizi sonuçlarından yola çıkarak MPV değerlerinin anlamlı değişiklik gösterip göstermediğini ortaya çıkarmaktır.

Materyal ve Metot: Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ve spondiloartropati (SpA) ön tanısı alan, birbirinden bağımsız iki hasta kümesi üzerinde değerlendirme yapılmıştır. Ayırıcı tanıları yapmak ve kesin tanılarına ulaşmak amacı ile MEFV mutasyon analizi (n: 126) ve HLA-B27 gen analizi (n: 112) istemi olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş, cinsiyet, MEFV gen mutasyon analizi, HLA-B27 gen analizi, C reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), platelet sayısı (PLT), mean platelet volüm (MPV), platokrit (PCT) ve platelet dağılım genişliği (PDW) değerleri kaydedildi. CRP değerleri dikkate alınarak iki farklı hasta kümesi kendi arasında üç gruba ayrıldı. CRP değerleri ≥ 5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak dönemindeki hastalar (grup 1), CRP değerleri <5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak döneminde olmayan hastalar (grup 2), CRP değeri <5 mg/L olan gen analizi negatif kontrol grubu hastalar (grup 3).

Bulgular: MEFV mutasyonu ve HLA-B27 gen analizi için yaptığımız iki farklı değerlendirmede benzer sonuçlar çıkmıştır. MPV ve PDW değerleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) düzeyleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). Grup 2 ve grup 3 arasında hem MPV, PDW hem de ESR için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). PLT ve PCT değerleri üç grup arasında anlamlı bir fark göstermedi.

Sonuç: İnflamatuar hastalıklarda akut atak durumunda büyük plateletlerin inflamasyon bölgesinde tüketilmesi hasta sonuçlarındaki düşük MPV değerlerinin sebebi olarak ileri sürülmüştür. CRP değerleri referans aralığının üzerindeyken MPV değerlerinin daha düşük bulunması bu hipotezi destekler gibi görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: MEFV, HLA-B27, MPV

ABSTRACT

Objectives: The size of platelets (MPV) in circulation is suggested to be associated with the intensity of systemic inflammation. The aim of the study was to investigate MPV influences in the patients who underwent a genetic test for MEFV and HLA-B27.

Materials and Methods: The patients who have a suspicion of Familial Mediterranean Fever (FMF) or spondyloarthropathy and underwent a genetic test for MEFV mutation (n: 126) or HLA-B27 genetic test (n: 112) were included in the study. MEFV mutation, HLA-B27 gene analysis, levels of C reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), platelet count (PLT), platelet distribution width (PDW), platocrit (PCT), mean platelet volume (MPV) and demographic data of the patients were noted. The patients were divided into three groups according to the CRP results. Group 1: CRP ≥ 5 mg/L MEFV positive (n: 35) or HLA-B27 (n: 53) positive. Group 2: CRP <5 mg/L MEFV (n: 53) or HLA-B27 (n: 36) positive. Group 3: CRP <5 mg/L MEFV (n: 38) and HLA-B27 (n: 43) negative.

Results: MPV and PDW was significantly lower in group 1 as compared to group 2 and group 3 ($p < 0,05$). ESR was significantly higher in group 1 as compared to both group 2 and group 3 ($p < 0,05$). MPV, PDW and ESR values were comparable between group 2 and group 3. PLT and PCT groups did not show a significant difference between the groups.

Conclusion: Decreased MPV values were thought to be due to the consumption of big platelets in the inflammation side. Decreased MPV values in the patients with higher values of CRP in our study seem to support this hypothesis.

Key Words: MEFV, HLA-B27, MPV

GİRİŞ

İmpedans ve lazer optik teknoloji ile tam kan sayım cihazı tarafından ölçülen trombosit indeksleri, trombosit boyutu hakkında bilgi veren parametrelerdir. Bu parametreler 1980'li yıllardan beri bilinmesine rağmen, klinik önemi tam olarak belirlenemediği için trombosit sayısının üzerinde daha çok durulmuştur¹. Platelet boyutu MPV (mean platelet volume) olarak, platelet boyut farklılığı PDW (platelet distribution width) olarak ifade edilir. Daha güvenilir sonuçlar için MPV ile birlikte PDW'nin de rapor edilmesi önerilmektedir. Otomatik hücre sayacı tarafından üretilen değişkenler içinde MPV, trombosit fonksiyonları hakkında en güvenilir belirteç olarak kabul edilir. Büyük plateletlerin daha genç ve küçük plateletlere kıyasla hemostatik açıdan daha aktif olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca dolaşımdaki platelet boyutunun sistemik inflamasyon yoğunluğu ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir².

MEFV (MEditerranean FeVer) geni, 16. kromozomda yerleşmiştir ve pyrin olarak adlandırılan proteinin kodlanmasından sorumludur³. Pynin inflamasyon kontrolünde temel düzenleyici olduğu ve mutasyon durumunda bu kontrolün ortadan kalkacağı ileri sürülmektedir⁴. Bilinen 29 tip MEFV mutasyonu vardır ve en sık mutasyonlar M694V, M680I, E148Q, V726A ve M694I'dir. Ailesel Akdeniz ateşi (FMF), tekrarlayan ateş ve serozit (peritonit, plörit, artrit) atakları ile karakterize, otozomal resesif geçiş gösteren otoinflamatuvar bir hastalıktır. FMF'in klinik prezentasyonu çok çeşitli olabilir⁵. Tanının atlanmaması veya yanlış tanı konmaması için şüphelenilen vakalarda tanının genetik test ile teyit edilmesi önemlidir⁶. FMF'in patogenezinde rol alan inflamatuvar sitokinler lökosit migrasyonu ile serozal alanlarda hasara ve platelet boyut değişikliklerine neden olur⁷. FMF'de MPV düzeyleri kardiyovasküler risk ve inflamasyonun şiddeti ile ilişkilendirilmiştir⁸.

HLA (Human Leucocyte Antigen) majör histokompatibilite (MHC) class 1 antijenlerinden biridir ve 6. kromozomda lokalizedir⁹. İmmün tanımada yabancı antijenleri vücuda ait olandan (self) ayırt etme görevi HLA molekülleri ile gerçekleşir. HLA-B27 varyant allel pozitifliği spondiloartropatiler (SpA) için genetik risk faktörüdür¹⁰. SpA; vertebra, periferik eklem ve eklem çevresi dokuların inflamasyonu ile karakterize, kronik, sistemik ve otoinflamatuvar bir hastalık grubudur. HLA-B27'nin inflamatuvar hastalıklardaki etki mekanizması üzerinde çeşitli hipotezler ileri sürülmüş olsa da otoimmün reaksiyon ve onu takip eden kronik inflamasyon

temel değişiklik gibi görünmektedir. SpA immunopatogenezinde yer alan IL-6, TNF- α gibi sitokinler inflamasyonu tetikleyerek hasara neden olurken, kanda trombosit indekslerini de etkileyebileceği düşünülmektedir¹¹.

FMF ve SpA gibi genetik yatkınlığı olan inflamatuvar hastalıkların klinik tanıları konduktan sonra, MPV değerlerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır^{8,12-14}. Ancak elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Bu çalışmada bizim amacımız MEFV ve HLA-B27 gen analizi sonuçlarından yola çıkarak MPV değerlerinin anlamlı değişiklik gösterip göstermediğini araştırmak ve olası değişikliğin mekanizmasını tartışmaktır.

MATERYAL VE METOT

Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ve spondiloartropati (SpA) ön tanısı alan, birbirinden bağımsız iki hasta kümesi üzerinde değerlendirme yapılmıştır. Ocak 2012- Ekim 2013 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ayırıcı tanıları yapmak ve kesin tanılarına ulaşmak amacı ile MEFV mutasyon analizi (n: 126) ve HLA-B27 gen analizi (n: 112) istemi olan hastalar tarandı, kesin tanı öncesi laboratuvar bulguları geriye dönük olarak incelendi.

Ek bir hastalığı olmayan, karaciğer ve böbrek fonksiyonları normal olan ve gen analizi için laboratuvara yönlendirilen tüm hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş, cinsiyet, MEFV mutasyon analizi, HLA-B27 gen analizi, C reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), platelet sayısı (PLT), MPV, platokrit (PCT) ve platelet dağılım genişliği (PDW) değerleri kaydedildi.

CRP değerleri dikkate alınarak, iki farklı hasta kümesi kendi arasında üç gruba ayrıldı. CRP değerleri ≥ 5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak dönemindeki hastalar (grup 1), CRP değerleri <5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak döneminde olmayan hastalar (grup 2), CRP değeri <5 mg/L olan gen analizi negatif klinik yakınması olmayan kontrol grubu (grup3).

Otomatik kan sayımı için EDTA içeren tüpler (%15 K3 EDTA 0.054ml/4.5 ml kan) kullanıldı. Numuneler antekübital venden vakumlu tüplere alınarak, azami 2 saat sonunda sonuçlar verildi. Böylece EDTA'ya bağlı olabilecek etkiler azaltılmış oldu. Tam kan ölçümleri, otomatik kan sayım analizöründe (XT-1800, Sysmex, Germany) yapıldı.

Mutasyon taraması için hastaların EDTA içeren tüplerle alınan periferik venöz tam kan örnekleri kullanılmıştır.

HLA-B27 alleli ve MEFV geni ile ilişkili 12 mutasyon (E148Q, P369S, F479L, M680I (G >C, G >A), I692 del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve ters hibridizasyon yöntemi ile çalışılmıştır (ViennaLab Labordiagnostica, Austria). Bu yöntem toplam dört aşamadan oluşmaktadır: (1) Genomik DNA kan örneklerinden standart yöntemle izole edilmiştir. (2) Biotinlenmiş primerler kullanılarak in vitro amplifikasyon (PZR) yapılmış, (3) amplifikasyon ürünlerinin hibridizasyonu sağlanmıştır. Son aşamada (4) biyotinin işaretlenen dizilerin streptavidin-alkalin fosfataz (identifikasyon) ve renk substratları kullanılarak belirlenmesinin ardından sonuçlar analiz edilmiştir.

Çalışma için yerel etik kurul izni alındı. Verilerin değerlendirilmesinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 18.0, Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanıldı. Verilerin dağılımının normal olup olmadığı, Kolmogorov-Smirnov testiyle değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilere Student-t test yapıldı ve veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlere, Mann-Whitney U testi uygulandı ve veriler median (minimum değer-maksimum değer) olarak gösterildi. $p \leq 0.05$ ise gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmanın ilk aşamasında MEFV mutasyon istemi olan 126 hasta; CRP düzeyleri ve mutasyonun pozitif veya negatif olmasına göre üç gruba ayrıldı, platelet fonksiyonları açısından bir fark olup olmadığı karşılaştırıldı. (Tablo 1).

MPV değerleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla $p = 0,007$; $p = 0,005$). PDW değerleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla $p = 0,013$; $p = 0,009$). ESR düzeyleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p = 0,020$; $p = 0,000$). Grup 2 ve grup 3 arasında hem MPV, PDW hem de ESR için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı. PLT ve PCT değerleri üç grup arasında anlamlı bir fark göstermedi ($p > 0,05$).

Araştırmanın ikinci aşamasında HLA-B27 gen analizi istemi olan 112 hasta; CRP düzeyleri ve mutasyonun pozitif veya negatif olmasına göre üç gruba ayrıldı, platelet fonksiyonları açısından bir fark olup olmadığı karşılaştırıldı (Tablo 2).

MPV değerleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla $p = 0,002$; $p = 0,000$). PDW değerleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu (sırasıyla $p = 0,015$; $p = 0,000$). ESR düzeyleri grup 1'de, grup 2 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p = 0,020$; $p = 0,007$). Grup 2 ve grup 3 arasında hem MPV, PDW hem de ESR için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı. PLT ve PCT değerleri üç grup arasında anlamlı ($p > 0,05$).

MEFV mutasyon analizi yapılan hastalarda da, HLA-B27 gen analizi yapılan hastalarda da benzer sonuçlar çıkmıştır.

TARTIŞMA

Birçok çalışmada FMF ve SpA gibi inflamatuvar hastalıkların klinik tanıları konduktan sonra MPV değerleri araştırılmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada, FMF ve SpA ön tanısı alıp, ayırıcı tanıları yapmak ve kesin tanılarına ulaşmak amacı ile MEFV mutasyon (n:126) ve HLA-B27 gen analizi (n:112) yapılan hastalar genetik sonuçları ve CRP düzeylerine göre gruplandırılıp, MPV düzeyleri birbirleriyle kıyaslanmıştır. Bildiğimiz kadarı ile literatürde bu şekilde bir çalışma bulunmamaktadır.

Fizyolojik ve patolojik koşullarda aktive trombosit talebini karşılamak için düzenleyici feedback sistem devreye girerek trombopoez aktive olur. Trombopoetik strese yanıt olarak megakaryositlerin büyüklüğü artar. Bu durum sonucunda oluşan büyük trombositler stres trombositleri olarak tanımlanır. Birçok çalışma büyük plateletlerin daha genç daha aktif ve daha trombojenik olduğunu desteklemiştir^{14,15}. Daha güvenilir sonuçlar için MPV ile birlikte PDW'nin de rapor edilmesi önerilmektedir. Ancak PDW'nin prognostik değeri ve trombosit aktivasyonunun bir göstergesi olarak güvenilirliği tartışma konusudur¹⁶.

MPV'nin prognostik ve terapötik gösterge olmasıyla birlikte ölçümünü etkileyen faktörler vardır. Sigara, hipertansiyon, diyabet, dislipidemi ve obezite gibi risk faktörleri MPV'yi artırır¹⁷. Trombosit indekslerinin tromboz ve inflamasyonla ilgili hastalıkların patofizyolojisiyle bağlantısı incelenmiştir. MPV'nin tromboz ve inflamasyon ile ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁸. Ancak trombosit indekslerinde ortaya çıkan değişikliklerin yorumlanması, inflamatuvar ve immün mekanizmaların karmaşıklığı göz önünde bulundurulduğunda her zaman kolay değildir. MPV'nin kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar gibi tromboz eğilimli hasta-

lıklarla ilişkisini incelenmiştir¹⁹. Bu çalışmalardan elde edilen kanıtlar, MPV artışı ve hastalık derecesi arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. FMF ve SpA gibi inflamatuvar hastalıklarda klinik tanılardan yola çıkılarak MPV değerlerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır, ancak sonuçlar çelişkilidir^{8,12-14}.

1997 yılında 16. kromozomun kısa kolunda (16p) 10 ekzondan oluşan MEFV (Mediterranean Fever) geni izole edilmiştir²⁰. Genin 781 aminoasitlik 'pyrin' isimli bir proteini kodladığı saptanmış ve bu proteinin inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. FMF, ateş ve serozit ataklarıyla karakterize, inflamatuvar ataklarla kendini gösteren otozomal resesif geçişli bir hastalıktır³. FMF için tanı koydurucu spesifik bir test yoktur. Öykü, klinik bulgular, kolşisine yanıt ve başka bir nedene bağlı olmayan amiloidoz tanı için önemlidir. FMF'in klinik prezantasyonu farklı olduğunda veya klinik tanı kesinleştirilemiyorsa, MEFV geni için genetik analiz yapılmalıdır. Mutasyon analizi tek başına hastalık tanısı koymaz, sadece tanıya yardımcıdır. MEFV genindeki çeşitli mutasyonlar sonucu farklı genotip ve fenotipler ortaya çıkar. Mutasyon tespit edilip, kliniği normal olan hastalar olabileceği gibi, FMF tanısı alıp mutasyon analizi negatif olan (%14-26) hastalar da vardır^{21,22}. Bu durum keşfedilmeyen MEFV mutasyonlarının olduğunu veya FMF'den sorumlu başka bir gen olabileceğini düşündürmektedir. Bir başka olasılık hastalığın tanısı hatalıdır, hasta diğer bir herediter periyodik ateş sendromlarından biri olabilir. FMF atakları sırasında nonspesifik bir akut faz yanıtı olur. ESR, CRP ve fibrinojen düzeyleri artar, lökositoz olur.

FMF'in patogenezinde sitokin yapımının rol aldığını düşündüren veriler vardır. IL-1, IL-6 ve TNF alfa gibi inflamatuvar sitokinler lökosit migrasyonu ile serozal alanlarda hasara ve trombosit hacim değişikliklerine neden olur⁷. Hastalık esnasındaki platelet aktivasyonu MPV'yi artırır, stres trombositleri olarak bilinen büyük plateletler kardiyovasküler risk ve inflamatuvar süreç ile ilişkilidir⁸.

HLA-B27; MHC sınıf 1 molekülüdür. HLA molekülleri iki polipeptid zincirinden oluşmuştur. Bunlardan ağır olan alfa zincir 6.kromozomda MHC bölgesinde kodlanır. HLA-B27 varyant alleli, spondiloartropatiler (SpA) için genetik risk faktörü olarak iyi bilinmektedir. Beyaz ırkta HLA-B27 pozitif ise herhangi SpA gelişme riski 20 kat daha fazladır²³. Spondiloartropatiler; ankilozan spondilit (AS), reaktif artrit, psöriatik artrit, enteropatik artrit, juvenil spondiloartrit ve tanımlanamayan spondi-

loartropatiden oluşan bir grup hastalıktır. SpA'lar eklem ve çevre dokuların inflamasyonu ile karakterize, etiolojisinde genetik yatkınlık olan inflamatuvar romatizmal hastalıklardır. Ankilozan spondilit HLA-B27 varyant alleli görülme sıklığı % 90-95 olan SpA prototipidir²⁴. Öykü ve fizik muayenenin AS'yi düşündürdüğü, ancak radyolojik bulguların tanıyı desteklemediği durumlarda HLA-B27 tanıya yardımcı olabilir. Ancak her HLA-B27 pozitif bireyde AS gelişmeyeceği gibi AS'li hastaların % 5-10'unda HLA-B27 negatif olabilir²⁵.

AS tanısı klinik özelliklere dayalıdır, tanıyı sağlayan spesifik bir belirteç yoktur. CRP ve ESR gibi akut faz reaktanlarının yüksek olması nonspesifik olmakla beraber klinik açıdan önemlidir. AS ve diğer SpA'lerde TNF- α 'nın serumda ve sakroiliak eklemde artmış ekspresyonu gösterilmiştir. AS immunopatogenezinde IL-6, TNF- α gibi sitokinlerin rolü olabileceği ve bu parametrelerin hastalık aktivitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu sitokinler eklem ve çevre dokularda inflamasyonu tetikleyerek hasara neden olurken kanda trombopoezi aktive ederek MPV'nin de yer aldığı trombosit indekslerini de etkileyebilir²⁶. MEFV mutasyonu ve HLA-B27 gen analizi için yaptığımız iki farklı değerlendirmede de; CRP değerleri ≥ 5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak dönemindeki hastalar (grup 1), CRP değerleri <5 mg/L olan gen analizi pozitif olan akut atak döneminde olmayan hastaların (grup 2), kontrol grubuna (grup 3) göre MPV ve PDW düzeyleri anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p < 0,05$).

Dursun ve ark.'nın yaptığı çalışmada atak olmayan dönemdeki FMF'li çocuk hastalarda inflamasyon aktivite göstergesi olarak splenomegali ve MPV düzeylerini karşılaştırılmıştır²⁷. Hastalar splenomegalisi olan (grup 1) ve olmayan (grup 2) olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Grup 1'in MPV düzeyleri grup 2'ye göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu çalışmada hastalık esnasındaki platelet aktivasyonunun MPV'yi arttırdığını savunmuşlardır. Çoban ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada ise ataksız dönemdeki erişkin FMF hastalarının MPV düzeylerini incelenmiştir. Sağlıklı kontrollere göre FMF hastalarında MPV düzeyleri yüksek bulunmuştur⁸ ($p=0,01$) Bu çalışmada trombositlerin büyük olma eğilimi kardiyovasküler risk ile ilişkilendirilmiştir. 2009 yılında Makay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada atak dönemindeki FMF'li çocukların atak döneminde olmayan FMF hastaları ve sağlıklı kontrollere göre MPV düzeyleri anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,00$). Atak döneminde olmayan FMF hastaları ve sağlıklı kontroller arasında bir fark bulunmamıştır¹² ($p=0,38$). Ataklar

esnasındaki düşük MPV düzeylerinin IL-6 etkisi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir²⁸.

Yazıcı ve ark.'nın yaptığı çalışmada AS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre MPV düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). MPV ve hastalık aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu ancak antiinflamatuvar tedavi ile MPV düzeylerinde düşme gözlemlendiği ifade edilmiştir¹⁴. Kısacık ve ark.'nın yaptığı çalışmada MPV değerleri AS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p < 0,0001$). Tedavi seyrinde hastalık aktivitesinin süpresyonunun MPV artışına neden olduğu ifade edilmiştir¹³. Bu duruma artmış sitokin etkisinin trombopoezi etkileyerek neden olduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda CRP değerleri referans aralığının üzerinde olan ve gen analizi pozitif olan akut atakdaki hastaların MPV düzeylerinin diğer gruplara göre yüksek olmasını destekleyen hipotezler mevcuttur. Proinflamatuvar sitokin ve akut faz reaktanları aşırı üretimi, megakaryopoeze müdahale etmek suretiyle kemik iliğinden küçük plateletlerin serbest bırakılmasını tetikleyerek, trombosit boyutunu süprese etmiş olabilir²⁹. Fizyolojik ve bazı patolojik koşullarda trombosit kütlesini korumak için trombosit sayısı ve MPV arasında sıklıkla ters bir ilişki tarif edilir. Bu ters ilişki genellikle enflamatuar hastalıklarda daha sık görülür. Aktive olmuş trombopoez ile dolaşımdaki trombositlerin miktarı artar. Küçük plateletlerden daha aktif olan büyük boyutlu trombositler, yoğun trombosit tüketimi olan inflamatuvar bölgelere yüksek miktarda göç etmiş olabilir³⁰.

MPV'nin trombosit fonksiyonunda nispeten güvenilir bir belirteç olmasıyla birlikte kendi ölçümünü etkileyen bazı faktörler vardır. Sigara, hipertansiyon ve dislipi-

dem gibi faktörlere bağlı olarak MPV etkilenebilir. Trombosit indekslerinin antikoagülan, saklama ısısı ve gecikmelere karşı duyarlı olduğu gösterilmiştir. Özellikle, EDTA'lı numunelerde trombositlerin zamana bağlı şişmesi yalancı MPV yüksekliğine neden olabilir. Numunelerdeki trombosit şişmesi örneklerin hızlı işleme tabi tutulması (az 1 saat içinde) veya sodyum sitrat'lı tüpler kullanılarak en aza indirilebilir. Aynı ve farklı hücre sayacıları sonuçları arasında bazen ortaya çıkan uyumsuzluk MPV kullanımını sınırlamaktadır.

Çalışmamızın bazı limitasyonları bulunmaktadır. Hastalar retrospektif olarak taranmıştır. Bu nedenle sigara içme durumları değerlendirmeye alınamamıştır. Hastaların gen analizi sonrası kesin tanıları, klinik özellikleri, tanı sonrası dönemleri, komplikasyon ve tedavi durumları incelenememiştir. Ayrıca yöntem yetersizliği nedeniyle bazı hastalarda mutasyonu saptanmamış olabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada düşük MPV düzeylerinin gen analizi pozitif olgularda inflamatuvar reaksiyon ile bağlantılı olduğu görüldü. Bu durum MPV'nin hastalık aktivitesinin bir bakışta hızlı değerlendirmede yararlı olabilecek pahalı olmayan test olduğunu göstermektedir. Ek bir maliyet ve çaba getirmemekle birlikte, hastalık seyrinde her zaman istenecek bir tam kan sayım sonucunu değerlendiren klinisyenin dikkatiyle değerli bilgilere ulaşılabilir. Evrensel olarak kabul edilebilir standartların hazırlanması için MPV ölçümünün inflamasyon ilişkili koşullarda büyük prospektif çalışmalarla kullanılması gerekir. MPV'nin hastalık aktivitesinin değerlendirilmesinde çok sayıda hasta ile gerçekleştirilen prospektif araştırmalar yapılmalıdır.

Tablo 1. MEFV mutasyon taraması yapılan hastaların demografik özellikleri ve trombosit fonksiyon parametreleri ile ilişkisi

Parametre	Grup 1 n=35	Grup 2 n=53	Grup 3 n=38	p value
Yaş	33.37±12.74	33.57±11.93	31.76±12.53	NS ^a NS ^b NS ^c
Cinsiyet	17E 18K	21E 32K	11E 27K	NS ^a NS ^b NS ^c
CRP	16.57 (5.42-329.55)	1.46 (0.03-4.42)	0.62 (0.10-4.88)	0.000 ^a 0.000 ^b 0.018 ^c
ESR	19.0 (1.0-88.0)	7.0 (1.0-55.0)	6.0 (1.0-26.0)	0,020 ^a 0.000 ^b NS ^c
MPV	10.67± 1.09	11.31±1.08	11.43± 1.14	0.007 ^a 0.005 ^b NS ^c
PCT	0.31±0.09	0.30±0.07	0.30± 0.07	NS ^a NS ^b NS ^c
PDW	13.14±1.97	14.31±2.19	14.50±2.33	0.013 ^a 0.009 ^b NS ^c
PLT	265 (176-590)	263 (93-434)	268 (155-403)	NS ^a NS ^b NS ^c

Tablo 2. HLA-B27 gen analizi taraması yapılan hastaların hastaların demografik özellikleri ve trombosit fonksiyon parametreleri ile ilişkisi

Parametre	Grup 1 n=33	Grup 2 n=36	Grup 3 n=43	p value
Yaş	32.73±11.27	33.97±10.6	38.62±13.44	NS ^a NS ^b NS ^c
Cinsiyet	16E 17K	18E 18K	20E 23K	NS ^a NS ^b NS ^c
CRP	10.84 (5.05-73.80)	2.09 (0.20-4.96)	1.32 (0.15-4.76)	0.000 ^a 0.000 ^b NS ^c
ESR	12.0(2.0-80.0)	8.0 (1.0-29.0)	6.0 (1.0-67.0)	0,020 ^a 0.007 ^b NS ^c
MPV	10.64±0.78	11.23±0.76	11.40±0.75	0.002 ^a 0.000 ^b NS ^c
PCT	0.33±0.09	0.32±0.09	0.30±0.06	NS ^a NS ^b NS ^c
PDW	12.66±1.52	13.6±1.65	14.1±1.67	0.015 ^a 0.000 ^b NS ^c
PLT	308.30±82.41	281.80±85.80	270.0±56.62	NS ^a NS ^b NS ^c

a: Grup 1-2 arasında

b: Grup 1-3 arasında

c: Grup 2-3 arasında

Normal dağılan parametreler mean±SD olarak, normal dağılmayan parametreler median (minimum değer-maksimum değer) olarak verilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 2005;115:3339-47.
2. Thompson CB, Eaton KA, Princiotta SM, Rushin CA, Valeri CR. Size dependent platelet subpopulations: relationship of platelet volume to ultrastructure, enzymatic activity, and function. *British Journal of Haematology* 1982;50:509-19.
3. Gasparyan AY, Ayyvazyan L, Mikhailidis DP, Kitas GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Curr Pharm Des* 2011;17:47-58.
4. Kastner DL. FMF: The genetics of inflammation. *Hosp Prac* 1998;33:131-46.
5. Gershoni-Baruch R, Brik R, Shinawi M, Livneh A. The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet* 2002;10:145-9.
6. Konstantopoulos K, Kanta A, Deltas C, et al. Familial Mediterranean fever associated pyrin mutations in Greece. *Ann Rheum Dis* 2003;62:479-81.
7. Thompson CB, Jakubowski JA. The pathophysiology and clinical relevance of platelet heterogeneity. *Blood* 1988;72:1-8.
8. Erkan C, Adanir H. Platelet activation in patients with Familial Mediterranean Fever. *Platelets* 2008;19:405-8.
9. Elisa N, Narzi D, Cauli A, et al. Interaction pattern of Arg 62 in the A-pocket of differentially disease-associated HLA-B27 subtypes suggests distinct TCR binding modes. *PLoS one* 2012; 7.3: e32865 (DOI: 10.1371/journal.pone.0032865).
10. Koehler L, Kuipers JG, Zeidler H. Managing seronegative spondyloarthritis. *Rheumatology* 2000;39:360-8.
11. Gasparyan AY, Sandoo A, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitas GD. Mean platelet volume in patients with rheumatoid arthritis: the effect of anti-TNF-alpha therapy. *Rheumatol Int* 2010;30:1125-9.
12. Makay B, Türkyilmaz Z, Ünsal E. Mean platelet volume in children with familial Mediterranean fever. *Clinical rheumatology* 2009;28:975-8.
13. Kisacik B, Tufan A, Kalyoncu U. Mean platelet volume (MPV) as an inflammatory marker in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2008;75: 291-4.
14. Yazici S, Yazici M, Erer B et al. The platelet functions in patients with ankylosing spondylitis: Anti-TNF- α therapy decreases the mean platelet volume and platelet mass. *Platelets* 2010;21: 126-31.
15. Bath P, Algert C, Chapman N, et al. PROGRESS Collaborative Group. Association of mean platelet volume with risk of stroke among 3134 individuals with history of cerebrovascular disease. *Stroke* 2004;35:622.
16. Coban E, Adanir H, Bilgin D. The association of mean platelet volume levels with hypertensive retinopathy. *Platelets* 2008;19:115-8.
17. Sprague DL, Elzey BD, Crist SA, Waldschmidt TJ, Jensen RJ, Ratliff TL. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity: unique delivery of CD154 signal by platelet-derived membrane vesicles. *Blood* 2008;111:5028-36.
18. Duygu H, Turkoglu C, Kirilmaz B, Turk U. Effect of mean platelet volume on postintervention coronary blood flow in patients with chronic stable angina pectoris. *J Invasive Cardiol* 2008;20:120-4.
19. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, et al. Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med* 1992; 326: 1509-13.
20. Yılmaz E, Özen S, Balcı B, et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* 2001; 9:553-5.
21. Korkmaz C, Özdoğan H, Kasapçopur O, et al. Acute phase response in FMF. *Ann Rheum Dis* 2002;61:79-81.
22. Schattner A, Hahn TA proposed mechanism of the inflammatory attacks in Familial Mediterranean fever. *Arch Intern Med* 1992;152:421-9.
23. Maksymowich WP. Spondyloarthropathies: Etiology and pathogenesis of ankylosing spondylitis. Philadelphia: Elsevier Limited; 2003: 1183-92.
24. Van der Linden SM, Valkenburg HA, de Jongh BM, Cats A. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. A comparison of relatives of spondylitis patients with the general population. *Arthritis Rheum* 1984;27:241-9.
25. Bal A, Unlu E, Bahar G, Aydog E, Eksioglu E, Yorgancioglu R. Comparison of serum IL-1 beta, sIL-2R, IL-6, and TNF-alpha levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2007;26:211-5.
26. Gasparyan AY, Sandoo A, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitas GD. Mean platelet volume in patients with rheumatoid arthritis: the effect of anti-TNF-alpha therapy. *Rheumatol Int* 2010;30:1125-9.
27. Dursun I, Gok F, Babacan O, et al. "Are mean platelet volume and splenomegaly subclinical inflammatory marker in children with familial mediterranean fever?." *Health* 2010;2(7):692-5.
28. Baykal Y, Saglam K, Yilmaz MI et al. Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF-alpha level in familial Mediterranean fever patients. *Clin Rheumatol* 2003;22:99-101.
29. Bath PM, Butterworth RJ. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:157-61.
30. Gasparyan AY, Ayyvazyan L, Mikhailidis DP, Kitas GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Current Pharmaceutical Design* 2011;17:47-58.