

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA APANDİSİT VE AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN KLİNİK VE GENETİK AÇIDAN AYRINTILI
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. JAVİD NAGHİYEV

DANIŞMAN

DOÇ.DR. EMRE DİVARCI

İZMİR 2022

ÖN SÖZ

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) hastalığı özellikle toplumumuzda yüksek insidansa sahip bir otoinflamatuvar bir hastalıktır. Çocuklarda Apandisit sonrası patoloji sonuçları göz önünde bulundurulduğunda negatif apendektomili ve komplike apandisitli hastalarda her zaman altta yatan bir AAA hastalığı bizlerde büyük şüphe uyandırmıştır. Literatürde her iki hastalık arasında yeteri kadar bilgiye ulaşamadık ve bu çalışmayı ilk defa yaparak literatüre katkıda bulunmak istedim.

Bu çalışma boyunca bana destek olan danışman hocam ve abim Doç.Dr.Emre Divarçı'ya derin teşekkürlerimi bildirmek isterim. Sadece bu tez süresince değil, bana katmış olduğu bilgilerden ve öğretilerinden dolayı da ayrıca müteşekkürüm.

Tez süresi boyunca bana desteğini hiç eksiltmeyen ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde en büyük katkı sağlayan Prof.Dr. Afig Berdeli'ye ayrıca teşekkürlerimi kendime borç bilirim.

Uzmanlık dönemim boyunca almış olduğum mükemmel eğitim, hayat dersim ve en önemlisi bana güvendikleri için tüm Hocalarıma ve abilerime teşekkürlerimi sunuyorum. Bu mesleği bana sevdiren ve bu yolda her zaman emin atımlar atmamı öğreten sizlersiniz.

Asistanlığım ve Baş asistanlığım boyunca bana her zaman yardımcı olan, aile gibi hissettiren ve en malign zamanlarımda bile beni tolere eden tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Sadece Uzmanlık eğitimim boyunca değil, her daim bana maddi ve manevi yardımlarından dolayı, her attığım adımlarımı destekleyen kardeşim Nicat'a, babam Aydın'a ve annem Sevinc'e teşekkürlerimi ve sevgilerimi bildirmek isterim.

Javid NAGHİYEV

Mayıs 2022

İzmir

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	4
GEREÇ VE YÖNTEM.....	12
BULGULAR.....	25
TARTIŞMA	32
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38
KAYNAKLAR.....	39
8. EKLER.....	43

ÖZET

Amaç: Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) hastalığı Doğu Akdeniz popülasyonlarında, özellikle Aşkenazi olmayan Yahudiler, Ermeniler, Türkler ve Araplar arasında yaygın olan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. EN ağır komplikasyonu Amiloidoz olan bu hastalığın erken tanı ve tedavi önem doğurmaktadır. Apendisit çocuklarda akut batın cerrahisinin en sık sebebi olarak bilinmektedir. Bu iki hastalık arasındaki ilişkiye dair literatürde çok fazla bilgiye raslanmamıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada AAA hastalığı ile Apendisit arasında genetik ve klinik olarak ortaya koymayı amaçladık.

Gereç ve yöntemler: Çalışmamız iki ana başlık altında yapıldı. 1. Bölümde 2016-2020 yılları arasında EÜTF Molekular Genetik laboratuvarında AAA tanısı almış hastalarda apendektomi sıklığı ve varsa komplikasyonlarını ortaya koymayı hedefledik. Çalışmamızın 2. bölümünde kliniğimizde 2016-2020 yılları arasında apendektomi uygulanmış hastaların patoloji preparatlarından AAA gen mutasyonu çalıştırılarak, apendektomi hastalarında AAA sıklığını belirledik.

Bulgular: 1000 AAA tanısı olan hastadan rasgele seçilen 100 hastadan (56 kadın, 44 erkek) 13 hastaya (%13) apendektomi uygulandığı öğrenildi. Ortalama operasyon yaşı 18.7 (9-30) yıl olan 13 hastanın tümü non-perfore olarak belirlenmiş ve komplike apandisit görülmemiştir. On üç hastanın 7'si erkek (%53), 6'sı kadındı (%47). Operasyon sonrasında 1 hastada (%7.6) atak sıklığında artma olduğu belirlendi. Altı hasta (%46) düzenli kolşisin kullanmaktaydı. Tüm istatistik hesaplamalar Binom testi ile yapıldı. %95 güven aralığında (%7.11-%21.20), AAA tanılı hastalarda apendektomi oranı anlamlı derecede yüksek bulundu ($P=0.009$). Elde edilen AAA oranı, toplumla karşılaştırıldı. Toplumda AAA oranı 1/1000 olarak kabul edilmektedir (2,3). Binom orantı testi kullanılarak yapılan karşılaştırmada, %95 güven aralığında apendektomili hastalarda AAA saptanma oranı topluma göre yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Sonuç: AAA apandisit sıklığını arttırmakta. Ülkemizde apendektomi sonrasında hastaların patoloji sonucundan bağımsız, bu hastaların yakından takip edilmesi ve AAA semptomları izlenmesi halinde Çocuk Molekular Genetik bölümüne yönlendirilmesi önerilir.

ABSTRACT

Aim: Familial Mediterranean Fever (FMF) disease is an autosomal recessive disease common in Eastern Mediterranean populations, particularly among non-Ashkenazi Jews, Armenians, Turks, and Arabs. Early diagnosis and treatment of this disease, the most severe complication of which is amyloidosis, is important. Appendicitis is known to be the most common cause of acute abdominal surgery in children. There is not much information in the literature on the relationship between these two diseases. In our study, we aimed to reveal genetically and clinically between FMF and Appendicitis.

Material and Methods: Our study was carried out under two main headings. In the first part, we aimed to reveal the frequency of appendectomy and its complications in patients diagnosed with FMF in the EUTF Molecular Genetics laboratory between 2016 and 2020. In the second part of our study, we determined the frequency of FMF in appendectomy patients by running the FMF gene mutation from the pathology samples of the patients who underwent appendectomy between 2016-2020 in our clinic.

Results: It was learned that appendectomy was performed in 13 patients (13%) out of 100 randomly selected patients (56 female, 44 male) out of 1000 patients with a diagnosis of FMF. All 13 patients with a mean age of operation of 18.7 (9-30) years were found to be non-perforated and no complicated appendicitis was observed. Of the 13 patients, 7 (53%) were male and 6 (47%) were female. It was determined that the frequency of attacks increased in 1 patient (7.6%) after the operation. Six patients (46%) were using colchicine regularly. All statistical calculations were made with the Binomial test. In the 95% confidence interval (7.11% - 21.20%), the rate of appendectomy was found to be significantly higher in patients with FMF ($P=0.009$). The obtained FMF rate was compared with the population. The rate of FMF in the society is accepted as 1/1000 (2,3). In the comparison made using the binomial proportionality test, the rate of FMF detection in patients with appendectomy was found to be higher than the general population ($p<0.001$) with a 95% confidence interval.

Conclusion: FMF increases the incidence of appendicitis. In our country after an appendectomy session, these patients should be followed up closely and if FMF symptoms are observed they should be referred to Pediatric Molecular Genetics Department.

TABLULARIN LİSTESİ

Tablo 1. StripAssay yöntemiyle yapılan 3378 hastanın 2166 sında saptanmış mutasyon sıklığı.....	5
Tablo 2. AAA ataklarının tipi ve prevalansı.	6
Tablo 3. Tel-Hashomer Kriterleri	7
Tablo 4. AAA tanısı için gereksinimler: en az 1 majör veya en az 2 minör kriter	7
Tablo 5. DNA dizi analizindeki BigDye İşaretleme yöntemi	14
Tablo 6. DNA/Primer havuzu hazırlanması için karışım hazırlanması	15
Tablo 7. Termal döngü cihazı koşulları-1	16
Tablo 8. Termal döngü cihazı programı-2	16
Tablo 9. Barkod Adaptör karışımı solusyonları.....	17
Tablo 10. Switch Solution ve adaptörlerin birleştirilmesi	17
Tablo 11. Termal döngü cihazı programı-3	18
Tablo 12. Konsantrasyonları eşitlenmiş library'lerin dilue edilmesi.....	20
Tablo 13. Amplifikasyon solusyonlarının reaksiyon için sıralama ve miktarı	20
Tablo 14. Melt-off Solüsyonunun Hazırlanması basamakları	21
Tablo 15. 8-kuyucuk strip plate'in yüklenmesi.....	22
Tablo 16. AAA hastalarda apendektomi güven aralığı ve AAA hastalarının toplum ile apendektomi oranının karşılaştırılması	26
Tablo 17. Mutasyon saptanan hastaların patolojik alt gruplara göre dağılımı.....	27
Tablo 18. AAA mutasyon saptanan hastaların güven aralığı ve AAA mutasyon saptanan hastaların, toplumdaki AAA sıklığına göre karşılaştırılması.....	28
Tablo 19. Mutasyon saptanan alt gruplar arasında yapılan karşılaştırılma	28
Tablo 20. Non komplike grubu karşılaştırılması ve güvenlik aralığı.....	28
Tablo 21. Negatif apendektomi grubu karşılaştırılması ve güven aralığı	29
Tablo 22. Perfore grubu karşılaştırılması ve güven aralığı	30
Tablo 23. Gruplarda saptanan tüm mutasyon tipleri.....	34
Tablo 24. Gruplarda saptanan takip ve tedavi gerektiren mutasyon tipleri	35

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. Barkod adaptör bağlanan kütüphaneler AMPure® XP reaktifi ile saflaştırılması.....	18
Şekil 2. Mutasyon saptanan hastaların, saptanmayanlara göre dağılımı	27
Şekil 3. Flegmanöz grubu frekans aralığı.....	29
Şekil 4. Apandiks Vermiformis grubu frekans aralığı.....	30
Şekil 5. Perfore grubu frekans aralığı.....	31

GİRİŞ

AAA hastalığı tedavi edilmediğinde ciddi komplikasyonlarla sonuçlanacak otoinflamatuar bir hastalıktır. Özellikle toplumumuzda en sık yerlerde 1:150 olmakla ortalama 1:1000 oranında görülen bu hastalık en sık çocukluk çağında semptom vermeye başladığından erken tanı ve tedavi, hastalığın daha da ilerlemesine engel olmaktadır. En sık karın ağrısı ve ateş semptomları olması nedeniyle akut batın tablosuyla benzer durumla karşı karşıya kalınmakta. Bu nedenle, bir çok AAA tanısı olan hasta atlanabilecek komplike apandisit durumunu önlenmesi açısından gereksiz apendektomi ameliyatı olmaktadır. Bu çalışmada AAA tanısı olan hastalarda apendektomi oranının topluma göre yüksek olduğu fakat bu hastalarda komplike apandisit ile karşılaşılmadığı görüldü. Çalışmamızın ikinci kısmında, apendektomi olmuş çocuklarda AAA taraması yaptığımız zaman ise, AAA'nin apandisiti arttırdığını ancak patolojik olarak tüm grupları eşit etkilediği sonucuna varıldı. Apendektomi sonrasında hastaların patoloji sonucundan bağımsız, bu hastaların yakından takip edilmesi ve AAA semptomları izlenmesi halinde Çocuk Molekular Genetik ve Çocuk Romatoloji bölümüne yönlendirilmesi önerilir.

Bu çalışma sonucunda:

1. AAA hastalarında genel topluma göre apendektomi oranının artıp artmadığı saptanabilecektir.
2. AAA hastalarında komplike apandisit oranının genel topluma göre artıp artmadığı saptanabilecektir.
3. Apandisit ön tanısıyla opere olmuş hastalarda AAA hastalığı riskinin artıp artmadığı saptanabilecektir. Bu sayede apandisitli hastalarda şüpheli durumlarda AAA hastalığı araştırılması önerilebilecektir.
4. Negatif apendektomili hastalarda zeminde AAA hastalığı riskinin arttığı saptanırsa bu hasta grubunda da AAA hastalığının genetik araştırılmasının yapılması önerilebilecektir.
5. Komplike apandisit gelişen hastalarda AAA hastalığının daha sık olduğu saptanırsa yine bu hastalarda ileri genetik araştırma önerilebilecektir.

ÇALIŞMANIN HİPOTEZLERİ

1. AAA tanılı hastalarda komplike apandisit sıklığı normal topluma göre daha yüksektir.
2. AAA tanılı hastalarda apendektomi oranı normal toplum göre daha yüksektir.
3. Negatif apendektomili hastalarda AAA saptanma oranı komplike ve non-komplike apandisitli hastalardaki AAA saptanma oranından anlamlı derecede yüksektir.
4. Komplike apandisit nedeniyle opere olan hastalarda altta yatan AAA hastalığı olma olasılığı diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksektir.
5. Apendektomili hastalar arasında AAA olma olasılığı genel topluma göre daha sıktır.

GENEL BİLGİLER

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), Doğu Akdeniz popülasyonlarında, özellikle Aşkenazi olmayan Yahudiler, Ermeniler, Türkler ve Araplar arasında yaygın olan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. AAA esas olarak Doğu Akdeniz halkı arasında yaygın olmasına rağmen, 20. yüzyıldaki yoğun nüfus hareketleri nedeniyle tüm dünyada görülebilmektedir.(1) Türkler tahminen 1:150 ila 1:1000 oranında en yüksek AAA prevalansına sahip olarak kabul edilir ve taşıyıcılık oranı 1:5'tir. (2–5) 16. kromozomun kısa kolunda yer alan ve “MEFV” (MEditerranean FeVer – Akdeniz Ateşi) ile sembolize edilen AAA geni, pürin veya marenostin adı verilen bir proteini kodlar; patojenik MEFV mutasyonlarının çoğu, bu alanın işlevsel önemine dair açık bir ipucu olan C-terminal yarısının yakınında bulunur. AAA'deki fenotip-genotip korelasyonları kesin olarak çözülmemiştir, ancak bazı araştırmacılar, pürin proteininin 694. amino asidini metioninden valine değiştiren spesifik bir MEFV mutasyonu (M694V) olan hastalarda daha şiddetli hastalık ekspresyonu ve amiloidoza duyarlılığın arttığını gözlemlemiştir. (1,6–17) N-terminal yarısının apoptoz yolu ile ilgili çeşitli proteinlerle yapısal benzerliklere sahip olduğunun keşfedilmiş olması dikkate değerdir. Pürinin işlevi net olarak anlaşılacakla birlikte, bu protein, interlökin-1b ve NF-kappaB'nin ardından proinflamatuvar yanıtı indükleyerek interlökin-1b işleme ve salgılamasında yer alabilir veya pürinin kendisi antiinflamatuvar sitokinler tarafından indüklenebilir.(18–20) INFEVERS'a göre (Touitou, 2010), herediter otoinflamatuvar veri tabanına kayıtlı 195 AAA mutasyon varyantının 81'i klinik olarak tipik AAA fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Dikkat çekici derecede geniş klinik değişkenlik önceki raporlarda belirtildiği gibi, genotipik ve fenotipik heterojenlik hastalığın altında yatan MEFV alelik heterojenliği ile bağlantılıdır (Shohat ve diğerleri, 1999; Cazeneuve ve diğerleri, 2000; Gershoni-Baruch ve diğerleri, 2003) ve bu detaylı mutasyon taramasını kritik derecede önemli hale getirmiştir. Berdeli ve ark. tarafından 2010 yılında 5518 AAA klinik tanılı hastada geniş çaplı mutasyon analizi yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar Türkiye'nin tüm bölgelerinden, 2002-2009 yılları arasından EÜTF Çocuk Hastalıkları Moleküler Genetik laboratuvarına başvuran, yaş aralığı 2 aylık-67 yaş arasında ve 2909 kadın ve 2609 erkek hastalardır(21). Çalışmada 2140 hasta DNA Sekanslama yöntemiyle, 3378 hasta ise StripAssay yöntemine çalışılmıştır. Bu çalışma esasında mutasyon sıklığı sıralaması yapılmıştır. Bir çok mutasyon sıklığına göre fazla sayıda bulunsa da, örn. E148Q, klinik olarak majör bir bulgu vermemektedir. Ancak M694V mutasyonu, hem en sık genotiptir hem de ciddi klinik bulgular ile kendini gösterir (Tablo 1).

Tablo 1. StripAssay yöntemiyle yapılan 3378 hastanın 2166 sında saptanmış mutasyon sıklığı

Mutasyon	Sayı	Yüzde (%)
M694V	951	43.9
E148Q	428	19.7
V726A	247	11.4
M680IG/C	239	11.03
P369S	101	4.6
R761H	60	2.7
K695R	51	2.3
M680IG/A	49	2.2
F479L	17	0.78
M694I	16	0.73
A744S	6	0.27
I692del	1	0.04

AAA'nin klinik tablosunun belirgin olması dolayısıyla tanı için laboratuvar ve genetik desteğe bazen ihtiyaç duyulmaz. Hastaların yüzde doksanı ilk atağını 20 yaşından küçük bir yaşta yaşamaktadır (22). AAA'in yedi farklı atak tipi mevcuttur.(Tablo 2)

Tablo 2. AAA ataklarının tipi ve prevalansı.

Tip	Özellik	En sık lokalizasyon	Prevalans (%)
Abdominal	Peritonit	Jeneralize	95
Eklem	Mono artrit	Alt ekstremitenin büyük eklemleri	75
Göğüs	Plörit Perikardit	Tek taraflı	40 <1
Skrotal	Vajinit	Tek taraflı	<5
Kas	Myalji	Bir veya birkaç kas grubu	<1
Deri	Erizipeloid	Alt bacak/baldır	<5
Ateş			25

Kimi AAA hastalarında sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, ankiyozan spondilit, gut, romatizmal ateş ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi ciddi otoimmün hastalıklar da eşlik edebilir (Livneh ve ark, yayınlanmamış veriler). (21) (22) AAA'nin amiloidoz, kronik artrit ve tekrarlayan serozit gibi kronik ve uzun süreli belirtileri vardır. AAA'nin en yıkıcı tezahürü amiloidozdur. Kolşisin çağından önce, AAA hastalarının %60 kadarında gelişmiştir. Hastalık kademeli gelişiminde beş aşamayı takip eder: Asemptomatik, proteinürik, nefrotik, azotemik ve üremik. AAA'li hastalarda kalıcı proteinüri (40.5 g /24 saat) görünümü, yüksek düzeyde kesinlik ile amiloidoz için tanı koydurucudur. 30 günden uzun süreli artrit olarak tanımlanan AAA'nin kronik artrit, eklem tutulumu olan AAA hastalarının %5'inde görülür.(23,24) Genellikle bir eklemi etkiler, birkaç ay sürer ve sekelsiz geçer.

AAA tanısı:

AAA tanısı hala esas olarak klinik bulgularla konur. Çoğu hastada klinik tablo tipiktir ve tanıyı basit ve anlaşılır kılar. AAA için tanı kriterleri bazı hastalarda tanıyı kolaylaştırabilir, ancak temel amaçları AAA hasta grupları arasında karşılaştırma için standart temel taşlar olarak hizmet etmektir. AAA ile ilgili arama merkezlerinin çoğu farklı farklı kriterler kullanır, ancak AAA teşhisi için Tel-Hashomer Kriterleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 3). Daha sonra benimsenen ve Sheba Tıp Merkezi kayıtlarındaki hasta verilerine dayalı olarak oluşturulan tanı kriterlerinin hem duyarlılığı hem de özgüllüğünün %99 olduğu bildirilmiştir.(25)

Tablo 3. Tel-Hashomer Kriterleri

Major Kriter	Minor kriter
Serozitli tekrarlayan ateşli ataklar (peritonit, sinovit veya plörit)	Rekürrent ateş epizodları
Predispozan bir hastalığı olmayan AA tip amiloidoz	Erizipel benzeri Eritemler
Düzenli kolşisin tedavisine olumlu yanıt	Birinci dereceli akrabada AAA tanısı

Kesin tanı: 2 major veya 1 major ve 2 minor kriter

Muhtemel tanı: 1 major ve 1 minor kriter

Tel-Hashomer kriterleri, Livneh ve ark. tarafından sadeleştirilerek yeni tanı kriterleri olarak kullanıma sunulmuştur. (Tablo 4)

Tablo 4. AAA tanısı için gereksinimler: en az 1 majör veya en az 2 minör kriter

Major kriter	Minor kriter
Tipik atak (1–4)	Aşağıdaki sitelerden birini veya her ikisini içeren tamamlanmamış ataklar

1- Jeneralize peritonit	1- Göğüs
2- Tek taraflı plörit veya perikardit	2- Eklem
3- Monoartrit (kalça, diz, ayak bileği)	3- Egzersiz bacak ağrısı
4- Tek başına Ateş	4- Kolşisine olumlu yanıt
5- Tamamlanmamış abdominal atak	

Tipik ataklar aşağıdaki özelliklerin tümünü içermelidir:

- Tekrarlayan (en az 3 atak),
- Ateşli (rektal sıcaklık $\geq 38^{\circ}\text{C}$) ve kısa süreli (12 saat ile 3 gün arası)

Tamamlanmamış ataklar (tekrarlayıcı olmalıdır) tipik ataklardan 1 veya 2 özelliğe farklı olarak aşağıdaki şekilde tanımlanır:

- 1- Sıcaklık $< 38^{\circ}\text{C}$
- 2- Atak süresi, tipik bir ataktan daha uzun veya daha kısa (ancak 6 saatten az ve 7 günden fazla değil)
- 3- Ataklar sırasında peritonit belirtisi olmaması
- 4- Lokalize karın atakları
- 5- Kalça, diz veya ayak bileği dışındaki bir yerde artrit

Kolşisin ile terapötik deneme uygulaması:

Kolşisine yanıt, AAA tanısını destekleyen bir tanı testi işlevi görebilir.(21) Hastaların yaklaşık %5'i zayıf olduğundan veya yanıt vermediğinden, kolşisine yanıtızlık AAA'yi dışlamaz. Kolşisin 1.5 mg 6±12 ay reçete edilir, ardından kesilir. Kolşisin amiloidoz görülen hastalarda, regressif özelliği ispat edilmiş olup, bazen toksik dozlara çıkılması gerekebilir. Kolşisin toksisitesi ve yan etkileri nedeniyle yerini İlaris tipli immunmodülatörlere vermiş olup, pozitif sonuçlar alınmaktadır.

Mutasyon analizi:

AAA'yi düşündüren semptomları olan ancak kesin bir tanısı olmayan hastalarda sıklıkla gözlenen MEFV mutasyonlarını saptamak için genetik tanı testleri kullanılabilir. Hastalığın sık görüldüğü ve buna bağlı olarak yüksek oranda taşıyıcı olduğu ülkelerde MEFV geninde iki mutasyon bulunması hastalık lehinde yorumlanmaktadır.

Laboratuvar testleri:

Şu anda AAA'ye özgü hiçbir laboratuvar testi mevcut değildir. Eritrosit sedimantasyon hızı (ESR), C-reaktif protein, Fibrinojen ve Serum Amiloid A (SAA) gibi akut faz belirteçleri, ataklar sırasında sıklıkla artar (26,27). Bu testler arasında, ESR, fibrinojen ve lökosit sayılarında (sırasıyla %90, %60 ve %50'sinde) bir artışın eşlik ettiği CRP'nin hemen hemen her epizod sırasında arttığı bildirilmiştir (25).

2005 yılında Türk AAA Çalışma Grubu (AAA-TR), erkek:kadın oranı 1.2:1 olan 2328 hastadan (ortalama yaş, 23.0 ± 13.33 yıl; aralık, 2-87 yıl) oluşan bir araştırma yaptı. Hastalığın başlangıcından tanıya kadar ortalama 6,9 ± 7,65 yıl vardı. Hastaların klinik özellikleri arasında peritonit (%93,7), ateş (%92,5), artrit (%47,4), plörit (%31,2), miyalji (%39,6) ve erizipel benzeri eritem (%20,9) mevcuttu. Artrit, artralji, miyalji ve erizipel benzeri eritem, hastalığı 18 yaşından önce başlayan hastalarda anlamlı olarak daha sıklıkla (p < 0.001). Bu hastaların geçirdiği ameliyatlarda apendektomi en önde gelen karın ameliyatı olarak saptanmıştır (2647 hastanın 504'ü, %19) (28).

Ailesel Akdeniz Ateşinin peritonit atakları (%95) genellikle acil tıbbi başvuru gerektirir ve tipik bir karın atağını cerrahi akut karın nedenlerinden ayırt etmek zordur. Bu nedenle, AAA hastalarında abdominal cerrahi, özellikle apendektomi öyküsü çok yaygındır (29). Karın ağrısı ve hassasiyet genellikle lokalize olarak başlar ve daha sonra daha yaygın hale gelir. Karın ağrısının nedeni periton inflamasyonu olduğu için, defans, rebound hassasiyet, rijidite ve

adinamik ileus gibi peritonit belirtileri sıklıkla mevcuttur ve bu “akut cerrahi karın”a oldukça benzeyen bir klinik acil durum senaryosudur. Çocukluk çağında akut cerrahi karının en sık nedeni akut apandisit ve özellikle 10-19 yaşlar arasındadır pik yapmaktadır. Akut apandisitli çocuklarda yaşam boyu risk %7–9 olup (30), endemik ülkelerde prevalansı 1/400–1/1000 olan AAA prevalansının çok ötesindedir (31). Daha önceki raporlarda AAA hastalarında abdominal cerrahi öykü oranı %20'ye varmaktadır. (28,29)

2009 yılında AAA tanısı alan 159 hasta, abdominal cerrahi öyküsü açısından değerlendirilmiş, AAA ön tanısı alan 159 olguda, on yedi (%10.7) apendektomi olgusu, dokuz (%5.7) farklı akut karın olgusu saptanarak geri kalan 26'sına (%16.4) farklı karın cerrahisi planlandığı tespit edilmiştir. (30)

Apandisit, erkeklerde yaklaşık %12 ve kadınlarda %25'lik insidans ile acil karın cerrahisinin en yaygın nedenidir. (31,32)

Genel olarak, M694V için yalnızca şiddetli fenotip ve homozigotluk, AAA'de apendektomi için istatistiksel olarak anlamlı risk faktörleridir. Modern tıbbi cihazlarda BT, günümüzde hastalıkların çoğunu teşhis etmek için çok popülerdir. Çalışmalardan birinde, karın ağrısı olan AAA hastalarına gereksiz apendektomileri ekarte etmek için BT taraması yapılarak az da olsa etkisini ortaya koyabilecek bir gösteride bulunuldu (32,33). Ancak pediatrik grup hastalara radyasyon hasarı nedeniyle mümkün olduğunca BT çekilmemesi önerilmektedir. Bu nedenle çocuk hasta popülasyonunda diğer laboratuvar belirteçleri ve klinik özellikler göz önünde bulundurularak hareket edilmelidir.

Apandisit patolojik bulgulara göre non-komplike (akut, flegmanöz, gangrenöz), komplike (perfore) ve negatif (appendix vermiformis) olarak sonuçlanabilir. Özellikle çocuklarda apendektomilerin yaklaşık 1/5'inde perfore apandisit saptanmakta ve ciddi komplikasyon ve morbiditeye yol açabilmektedir.

Apendektomi uygulanan 676 pediatrik hastayla (1-18 yaş arası) yapılan çok merkezli epidemiyolojik çalışmalardan biri, hastaları yaşlarına göre 2 gruba ayırdı: 0-5 yaş, İnfant-Okul Öncesi (İÖÖ); 5-18 yaş, Çocuk-Ergen (ÇE) grubu. İÖÖ grubunda perforasyon (%45) daha fazlaydı (P < 0.025), İÖÖ grubunda akut apandisit oranı %78 ve perfore apandisit oranı %22 idi. (34)

2010 yılında yapılan çalışmada 2004-2007 yılları arasında ameliyat edilen 1871 hasta perfore ve non-perfore apandisitli olmak üzere iki gruba ayrıldı. Apandisit en sık erkeklerde ve 10 ile 19 yaş arasında sık görüldüğü izlendi. Perfore apandisit ise en sık 0-9 yaş ve 50 yaş

üstü grupları arasında görülmekteydi (%15 ve %14.3). (35) Bu çalışmada toplam perforasyon oranı %10.9'dur.

Apendektomi patolojilerinin ciddi bir bölümünü patolojisi normal olarak sonuçlanan negatif apendektomiler oluşturur. Sander ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 65 merkezin 209 çalışması sonucu 16.102 apandisit tanısından 1185'inin (%7) negatif apendektomi olduğu hesaplanmıştır.(36) Negatif apendektomi oranı genel popülasyonda %8.4-25 arasındadır.(37,38) Apandisit ön tanısı ile ameliyat olmuş ve normal patoloji raporu ile sonuçlanan bu hastaların altta yatan bilinen veya ön görülen hastalar arasında AAA hastalığı ilk akla gelen hastalıktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada komplike/non-komplike/negatif apendektomilerde AAA oranının saptanması ve AAA tanılı olgularda apendektomi insidansinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu nedenle:

- 1) Kliniğimizde 2016-2020 yılları arasında apendektomi uygulanmış hastaların patoloji preparatlarından AAA gen mutasyonu çalıştırılarak, apendektomi hastalarında AAA sıklığını belirlemek.
- 2) 2016-2020 yılları arasında EÜTF Molekular Genetik laboratuvarında AAA tanısı almış hastalarda apendektomi sıklığı ve varsa komplikasyonlarını ortaya koymak.

Alınan tüm veriler “Binomial proptin confidence interval” (Binom oranı güven aralığı) yöntemi ile analiz edilerek sonuçlar ortaya konulacaktır.

Literatürde AAA tanılı hastalarda apandisit veya negatif apendektomili hastalarda AAA sıklığı belirlenmesi başlığıyla literatürde çok az sayıda makale bulunmakla birlikte, bu çalışmalarda da hasta sayısının oldukça az olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda sadece negatif apendektomili değil, aynı zamanda hem non-komplike ve komplike apandisitlilerde AAA sıklığı saptanması amaçlanmıştır. Özellikle çocuklarda komplike ve non-komplike apandisitinin AAA yönünden incelenmesi açısından literatürde herhangi bir veri olmadığından, yapacağımız çalışma ile literatüre büyük katkı sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

Çalışmamız 24.09.2021 tarihinde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından E-99166796-050.06.04-331105 Sayı numarası ve 21-9.1T/19 Onay kararı ile onaylanmıştır ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından Proje no:23475 olarak desteklenmiştir.

2016-2020 yılları arasında kliniğimizde apendektomi uygulanmış ve sonuçlarına göre, non-komplike, komplike ve negatif apendektomili hastaların patoloji preparatlarından doku örnekleri EÜTF Patoloji Anabilim Dalı'ndan alınarak, EÜTF Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında DNA izolasyonu işlemi sonrasında AAA taraması uygulandı. Toplam 739 hastadan 500 hasta randomizasyonla seçilerek incelendi. Patoloji sonuçları göz önüne alındığında 57 (%11.4) negatif apandisit (appendix vermiformis), 88 (%17.6) komplike apandisit (perfore), 355 (%71) non-komplike apandisit (akut, flegmanöz, parazitik, gangrenöz) görüldü. İstatiksel olarak yaş, cinsiyet kriterlerine göre her gruptan tabakalandırılmış randomizasyonla 32 hasta çalışmaya dahil edildi.

Patoloji ABD'dan alınan örnekler EÜTF Moleküler Genetik bölümünde önce deparafinizasyon ve DNA izolasyonuna tabi tutuldu. Çalışma için öncelikle Sanger sekanslama ve NGS (Next Generation Sequencing) yöntemi uygulandı.

SANGER sekanslama ve NGS basamakları:

DNA İzolasyonu dokudan total genomik DNA ekstraksiyonu:

Çalışmada invitrogen kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılacaktır. Bu izolasyon tekniğinin genel olarak çalışma prensibi Lizis solüsyonunu kullanarak hücre zarının parçalanması ve hücre içeriğinin açığa çıkarılması ve proteinaz K ile tüm hücresel ve nükleer histon proteinlerinin ayrılması, RNase A ile RNA'nın uzaklaştırdıktan sonra, alkolle DNA'nın membranda presipitasyon basamağı ile yıkama membrana bağlama basamakları sonucunda alkol, protein ve membran lipid içeriklerinin ayrılmış halde ELUTION buffer ile en son uygulanan basamağında DNA'nın saf olarak eldesi sağlanır. Elüsyon tampon çözeltisi ile membrana bağlı kalan nükleik asidin %85-100'ü elüe edilir.

DNA Kantitasyonu ve DNA Kalitasyon kontrolleri:

DNA saflığını belirlemek için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 280 nm dalga boyunda DNA konsantrasyonu, 50 ng/ µL olacak şekilde 200 µL volümde ölçülür.

2 µl (100 ng) DNA molekülü %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemini uygulanacaktır. Jeldeki DNA, baz sayısı bilinen standart DNA markırı (Hae III Fermentas) ile karşılıklı olarak yüklenip, Syngene InGeneous jel kamera sistemi kullanılarak görüntülendi. Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, PCR işlemlerinde kullanıldı..

PZR Çalışmaları:

Elde edilen DNA'dan MEFV gen bölgelerinin çoğaltılması için PZR tekniği uygulandı. Bu çalışmada EGE Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Tıp laboratuvarında uygulanan standart yöntem kullanıldı (Taq polimeraz, Reaksiyon Tamponu, Primeler (Forward/Revers), MgCl, dTPS, ddH₂O, Enhancer).

PCR ürünleri kontrolü:

Primer bağlanmalarını görmek amacı ile uygulanır. Bu uygulamada %2 lik hazırlanan agaroz jel içine 3 mikrolitre orange boyası uygulandı. Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesinde bulunan jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi.

Enzim Kesimi:

PCR ürünleri exo-SAP karışımı ile enzimatik yöntemlerle saflaştırıldı . Saflaştırılmış örnekler amplifikasyon ürünlerinden zincir sonlandırma yöntemi ile (BigDye chemistry) cycle sequencing PCR yapıldı. Elde edilen apilikonlar agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi. Bu yöntemin amacı ampliconlarda var olan fazla nükleotidlerin ve fosfat grupların uzaklaştırılmasıdır.

DNA Dizi Analizi:

Saflaştırılmış ürünler ABI3130xl otomatik DNA analiz sisteminde kapiller yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen nükleotid dizileri NCBI elektronik veri bankasından elde edilen referans dizileri ile karşılaştırılarak mutasyonlar veya polimorfizmler belirlendi. Bu amaçla enzim kesimden çıkan ürünler öncelikle bigDye boyası ile işaretlendi. İşaretlenen örnekler ait gen dizisi ABI 3140XL Genetic Analyzer cihazında görüntülendi. Çıkan sonuçlar referans dizi ile karşılaştırılıp DNA varyantları tespit edildi. (Tablo 5)

Tablo 5. DNA dizi analizindeki BigDye İşaretleme yöntemi

PZR örneği	BigDye İşaretleme
Bigdye Buffer	
Bigdye	
ddH2O	

Sanger sekanslama yöntemiyle çalıştığımız AAA mutasyon tarama işlemi, dokuların saklandığı formal koşulları nedeniyle DNA 'da çok fazla kırılma meydana gelmiştir. Bu DNA kırılması sonucunda MEFV genin bütün 2. ve 10. eksonu hariç tam bir dizileme gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle NGS (Next Generation Sequencing) yöntemiyle DNA varyant taramalarını tekrar çalıştık. Bu yöntem ile, MEFV geninin çok sayıda okumasını sağlayarak ilk eksonları tam uzunlukta okunmasını sağladı.

NGS yöntemi ile mutasyon taraması:

Kütüphane oluşturma:

- Ion Library Kitleri (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak aşağıda belirtilen yüksek performanslı kütüphaneler oluşturulur.
 - AMPLISEQ LIBRARY

Ion ampliseq panelleri kullanarak kütüphane oluşturma:

Hedef Bölgenin Çoğaltılması:

- Yüksek kalitede RNA-free DNA gerektirir. Giren DNA'nın sonuçlanan kütüphane üzerinde önemli etkisi vardır. Yüksek moleküler ağırlıkta RNA-free gDNA izole etmek için ticari olarak satılan kitler uygundur.

DNA ya da RNA izole edilip, konsantrasyonları ölçüldükten sonra library oluşturmak 10 ng olacak şekilde dilüsyon yapılır.

1- 2X primer havuzu içeren Ion Ampliseq MEFV paneli kullanılır. Her bir DNA/Primer havuz kombinasyonu için izleyen içerenler 96 well PCR plate'ine eklenir. Çoklu reaksiyonlar için bir master miks (karışım) hazırlanır (Tablo 6).

Tablo 6. DNA/Primer havuzu hazırlanması için karışım hazırlanması

2X Primer Havuzu		
İçerenler	Sample ID Panel dışındaki hacim	Sample ID Panel ile hacim
5X Ion AmpliSeq™ HiFi Mix (red cap)	4 µL	4 µL
2X Ion AmpliSeq™ Primer Pool	10 µL	10 µL
Optional: 20X Ion AmpliSeq™ Sample ID Panel	—	1 µL
DNA, 3000 copies (10 ng for mammalian genomes)	≤ 6µL	≤ 5µL

Nuclease-free Water	to 20 µL	to 20 µL
---------------------	----------	----------

2. MicroAmp® adhesive film ile plate kapatılır, tamamen vortekslenir ve döndürülür. Alternatif olarak plate’i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.
3. Termal Döngü Cihazı koşullarına geçilir (Tablo 7).

Tablo 7. Termal döngü cihazı koşulları-1

Etap	Adım	Sıcaklık	Zaman
Tutma	Enzimi aktifleştirmek için	99°C	2dk
Döngü	Denatüre	99°C	15sn
	Soğutma ve Uzatma	60°C	4dk/
Tutma	—	10°C	Tutma

Primer dizilerini kısmi olarak kesme:

- Bu işlem kitin içerisinde çıkan FuPa reagent ile gerçekleştirilir.
- FuPa reagent ampliconları keser ve fosforiller, onları ligase enzimi için substrat haline getirir. Bu basamak olmadan, ampliconlar adaptörlere bağlanamaz.

1. Plate üzerindeki seal dikkatlice açılır, her bir çoğaltılan örneğe 2 µL FuPa Reaktifi eklenir. Toplam hacim 22 µL olmuştur.
2. MicroAmp® adhesive film ile plate kapatılır, tamamen vortekslenir ve spin atılır. Alternatif olarak plate’i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.
3. Termal döngü cihazına yüklenir ve program çalıştırılır (Tablo 8).

Tablo 8. Termal döngü cihazı programı-2

Sıcaklık	Zaman
50°C	10dk
55°C	10dk
60°C	20dk

10°C	1 saate kadar cihazda bekleyebilir
------	------------------------------------

Amplikonlara adaptörleri bağlama ve saflaştırma:

- Eğer bir panel iki veya daha fazla primer havuzuna sahipse, örneğe tüm reaksiyonlar için aynı barkod kullanılır. Tek bir örnekte çoklu panel çalıştırıldığında (örn; bir DNA ve bir RNA paneli) her bir kütüphane için tek bir barkod kullanılmalıdır.
- Tek bir çip ile çoklu kütüphane çalışıyorsak, her bir kütüphane için farklı barkod kullanılmalıdır.
- Barkodlar dilue edilerek kullanılır (Tablo 9).

Tablo 9. Barkod Adaptör karışımı solusyonları

Dilue edilen Barkod Adaptör Karışımı 4 Reaksiyon içindir	
İçerenler	Hacim
Ion P1 Adapter	2 µL
Ion Xpress™ Barcode X*	2 µL
Nuclease-free Water	4 µL
Toplam	8 µL

*X= seçilen barkod

Bağlanma reaksiyonu:

1. Dikkatli bir biçimde “Plate Seal” açılır ve primerleri kısmi olarak kesilmiş örneği içeren her kuyucuk için aşağıdaki solüsyonlar eklenir. Eklemeyen önce Switch Solution ve adaptörler uygun hacimde birleştirilebilir (Tablo 10).

Tablo 10. Switch Solution ve adaptörlerin birleştirilmesi

İçerenler	Hacim
Switch Solution (yellow cap)	4 µL
Dilue edilmiş barcode adapter mix	2 µL
Toplam hacim (22µL’si FuPa reagent eklenmiş amplicon)	28 µL

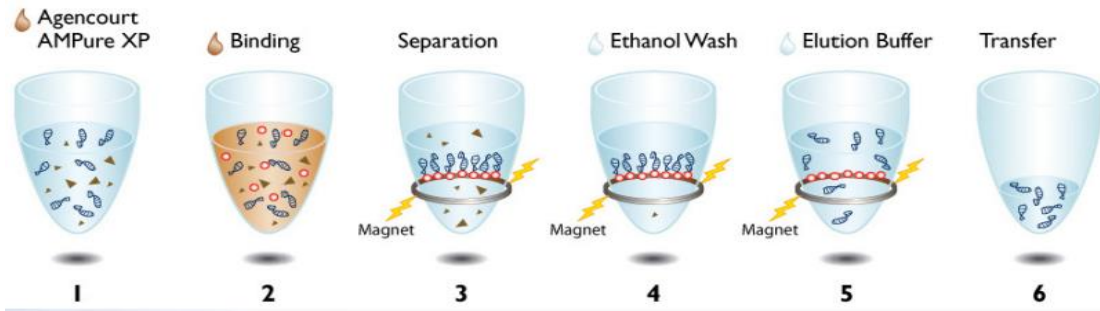
2. Her bir kuyucuğa 2 µL DNA Ligase eklenir (toplam hacim 30 µL).

3. Plate MicroAmp® adhesive film ile kapatılır vortekslenir ve damlacıkları toplamak için spin atılır. Alternatif olarak plate'i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.
4. Termal döngü cihazına yüklenir ve program çalıştırılır (Tablo 11).

Tablo 11. Termal döngü cihazı programı-3

Sıcaklık	Zaman
22°C	30dk
72°C	10dk
10°C	1saate kadar cihazda bekleyebilir)

Amplifiye edilmemiş kütüphanenin saflaştırılması:



Şekil 1. Barkod adaptör bağlanan kütüphaneler AMPure® XP reaktifi ile saflaştırılması

Saflaştırma basamakları:

1. “Plate Seal” açılır ve her bir kütüphane için 45 µL (1.5X örnek hacim) Agencourt® AMPure® XP Reagent eklenir ve DNA ile beadler 5 kez pipetaj yapılır.
2. Karışım oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilir.
3. Plate magnetik tüplüğün üzerine alınır ve solüsyon şeffaflaşana kadar veya 2dk inkübe edilir. Dikkatli bir şekilde süpernatant pelletten ayrılır ve atılır.
4. Taze hazırlanmış 150 µL, 70%'lik etanol plate'e eklenir, plate magnet üzerinde sağ ve sola taraflara kaydırılarak beadler yıkanır sonrasında süpernatant alınır ve atılır. Not: Kullanılan magnet 2 pozisyon değiştirme özelliğine sahip değilse, plate magnetten alınır (100 µL'lik pipet ile) yumuşak bir biçimde 5 kez pipetaj yapılır, sonrasında plate magnette geri alınarak solüsyon temiz olana veya 2 dk inkübe edilir.

5. 4. aşama tekrar edilir.
6. Tüm etanol damlacıkları toplanır ve alınır. Magnete alınan plate 5 dk oda sıcaklığında beadlerin kuruması için bekletilir. Aşırı kurutma yapılmamalıdır (Şekil 1).
Not: Kalan etanol damlaları kütüphanenin çoğalmasını inhibe edecektir. Zorunlu kalınırsa, havayla kurutmadan evvel plate spin atılarak kalan etanol pelletten uzaklaştırılmalıdır.

Qubit® 2.0 Fluorometer: Kütüphaneyi Ölçme ve Sulandırma Faktörünü Hesaplama:

Çoğalmış her kütüphanenin 10 µL'si Qubit® 2.0 Fluorometer (Cat. no. Q32866) ve Qubit® dsDNA HS Assay Kit kullanılarak analiz edilir. Çoğalmış kütüphane genellikle 300–1500 ng/mL konsantrasyondadır. Çoğaltılmış kütüphane konsantrasyonunu belirlemek için:

1. a) Qubit® dsDNA HS, Qubit® dsDNA HS Buffer kullanılarak 1:200 oranında çalışma sulandırması yapılır.
2. b) 10 µL çoğaltılmış Ion AmpliSeq™ kütüphanesi 190 µL boyalı reaktif ile iyice karıştırılır ve en az 2 dk inkübe edilir.
3. c) Qubit® 2.0 Fluorometerde konsantrasyon ölçülür.
4. d) 20 ile çarpılarak sulandırılmamış kütüphanenin konsantrasyonu hesaplanır.
Bu otomatik olarak “Calculate Stock Concentration” butonu kullanılarak ve örnek hacmi 10 µL olarak girilerek hesaplanır.

Hesaplanmış kütüphane konsantrasyonuna göre ~100 pM olarak ayarlanan sulandırma belirlenir (15 ng/ml için 225bp amplikona kadar, 22 ng/ml 275bp amplikona kadar). Örneğin; 125-175 bp uzunluğunda FFPE ile uyumlu tasarımda;

- Kütüphane konsantrasyonu 450 ng/mL'dir.
- 450 ng/mL olan sulandırma faktörü 15 ng/mL ile bölünür, $450 \text{ ng/mL} / 15 \text{ ng/mL} = 30$
- Böylece, kütüphane'nin 10 µL'si 290 µL Low TE (1:30 dilution) ile karıştırılır ürün yaklaşık olarak 15 ng/mL (~100 pM) olur.

Sulandırılan kütüphane ~100 pM gibi belirlenir ve kütüphaneleri birleştirmeye veya Template hazırlamaya geçilir.

Template hazırlama:

Konsantrasyonları eşitlenmiş olan library'lere emülsiyon bazlı PCR işlemi uygulanır. Her bir amplikona bir bead bağlanması ve yağ küreciği içerisinde bunların clonal olarak milyonlarca kopya yapması sağlanır.

Konsantrasyonları eşitlenmiş library'ler aşağıdaki tabloya göre dilue edilir (Tablo 12). Dilue edilen library buz üzerinde bekletilir.

Tablo 12. Konsantrasyonları eşitlenmiş library'lerin dilue edilmesi

	Ion AmpliSeq TM DNA Library	Ion AmpliSeq TM RNA Library	gDNA Fragment or Amplicon Library	Ion Total RNA-Seq Library
Library konsantrasyonu	100 pM	100 pM	100 pM	100 pM
Library hacmi	6-8 µL	6-8 µL	6-8 µL	6-8 µL
Nuclease-free Water hacmi	94-92 µL	94-92 µL	94-92 µL	94-92 µL
Amplification solüsyonuna eklenecek total dilue library hacmi	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL

Reaksiyona girecek amplifikasyon solüsyonu aşağıdaki tablodaki sıraya ve miktarlara göre bir tüpe eklenir (Tablo 13). Reaktiflerin eklenmeden önce iyice karıştırılmalıdır.

Tablo 13. Amplifikasyon solusyonlarının reaksiyon için sıralama ve miktarı

Sıra	Reagent	Hacim
1	Nuclease-free Water	25 µL
2	Ion S5 TM Enzyme Mix	120 µL
3	Diluted library (not stock library)	100 µL
4	Ion Sphere TM Particles	100 µL
—	Total	2400 µL

Amplifikasyon solüsyonu hazırlandıktan sonra vortekslenir ve çok kısa santrifüjlenir. 800 ul hacimler çekilerek 3 keredeki Reaksiyon filtresine aktarılır. Üzerine 200 ul Reaction Oil eklenir.

Reaksiyon Filtresi OT2 cihazına yerleştirilerek uygun protocol seçilir ve emülsiyon PCR reaksiyonu başlatılır.

Template-Positive ISP'lerin yıkanması:

1. OT2 sistemindeki çalışma bittikten sonra elde edilen ürünün süpernatanı her iki tüpte de 100 ul kalacak şekilde uzaklaştırılır. Bu ürün yeni bir 1,5 ml eppendorfa aktarılır.
2. Recovery tüplere 100'er ul nükleaz free water koyularak pipetaj yapılır. 200ul nükleaz free water da 1,5 ml tüpün içerisine alınır ve total hacim nükleaz free water ile 1 ml'ye tamamlanır.
3. 15500 x g'de 8 dk santrifüj yapılır. Santrifüj sonrası 20 ul pellet kalacak şekilde süpernatant uzaklaştırılır.
4. ISP Resuspension solution eklenerek total hacim 100 ul'ye getirilir.

Template-Positive ISP'lerin Enrichment Sistemiyle Eldesi:

Çeşitli reaktifler hazırlanarak 8-kuyucuk plate'e eklenir ve reaksiyon başlatılır.

Tablo 14. Melt-off Solüsyonunun Hazırlanması basamakları

Sıra	Bileşen	Hacim
1	Tween [®] Solution	280 µL
2	1 M NaOH	40 µL
—	Total	320 µL

Melt-Off Solution son konsantrasyonu 125 mM NaOH ve 0.1% Tween[®] 20 deterjanıdır.

1. Dynabeads[®] MyOne[™] Streptavidin C1 Bead'lerin yıkanması ve resuspend edilmesi

- i. Dynabeads[®] MyOne[™] Streptavidin C1 Bead'ler oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslenir ve resuspend edilir.
- ii. 100 ul bead bir tüpün içine aktarılır ve tüplük magnete yerleştirilir. Solüsyon şeffaflaşana kadar beklenir ve süpernatant uzaklaştırılır.

iii. Bead pelletin üzerine 1000 ul Ion One Touch Wash Solution eklenir, karıştırılır, magnete alınır, şeffaflaşana kadar beklenir, supernatan uzaklaştırılır.

iv. Bead pelletin üzerine 130 ul MyOne™ Beads Wash Solution eklenir ve vortekslenir, bead solüsyonu elde edilir.

2. 8-kuyucuk strip plate'in yüklenmesi (Tablo 15)

8-kuyucuk strip plate aşağıdaki sıraya göre yüklenir:

Tablo 15. 8-kuyucuk strip plate'in yüklenmesi

Well numarası	Well'e aktarılacak reaktif
Well 1	Template-positive ISP örneğinin tamamı [100 µL prosedür]
Well 2	130 µL MyOne™ Beads Wash Solution içerisinde çözdürülen Dynabeads® MyOne™ Streptavidin C1 Beads
Well 3	300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 4	300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 5	300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 6	Empty
Well 7	300 µL taze hazırlanmış Melt-off solüsyonu
Well 8	Empty

Enrichment reaksiyonu sonrasında elde ettiğimiz ürün chipe yüklenecek örnektir. Kullanılacak hacim chip kapasitesine göre belirlenir.

Sekanslama:

Dizileme aşamasında kalıp DNA dizisindeki her bir baz eşleşmesinde şeker-fosfat bağı koparak ortama bir H⁺ iyonu salınır. Bu da pH'nın düşerek cihazda okuma sinyali almasını sağlar. Bazlar ortama tek tek salınır ve her eşleşmede bu sinyal değişimi algılanır. Eşleşmeyen baz

olması durumunda hiçbir pH değişimi dolayısıyla sinyal değişimi olmaz. Hazırlanan örnekler bir chipe yüklenir ve cihaz okumaları bu chipteki ürün üzerinden yapar.

Dizileme reaksiyonu 4 aşamada gerçekleşir:

1- Çalışma Planı'nın Ion Torrent Server üzerinde hazırlanması: Plan çalışmada hangi kitler kullanıldı, hangi örneğe hangi barkod bağlandı, hangi ek programlarla analiz edilmek isteniyor gibi bilgileri içerir.

2- Ion S5 cihazının pH'sının otomatik olarak ayarlanması: Ion S5 Sequencing Kitinden hazır olarak çıkan Ion S5™ Wash Solution bottle, Ion S5™ Sequencing Reagents cartridge, Ion S5™ Cleaning Solution bottle kullanılarak cihazın pH'sının ayarlanması sağlanır. Wash 2'nin pH'nın 7.49-7.60 civarlarına ulaşması gerekir ve cihaz bunu otomatik olarak ölçerek peak görüntülerini kullanıcıya sunar.

3- Chip yüklenmesi ve dizileme: Ion S5 cihazında okunacak örneğin kapasitesine ve alınmak istenen okuma oranlarına göre seçilebilecek 3 çeşit chip vardır. 520 chip ortalama 1.2-2 milyar okuma kapasitesinde, 530 chip ortalama 6-8 milyar okuma kapasitesinde ve 540 chip 12-20 milyar okuma kapasitesindedir. Bu oranlar çalışmanın kalitesine ve chipe yüklenmesine göre değişir.

- Enrich edilen ve template positive ISP içeren örneğe 5 ul Control Ion Sphere Particle eklenir. Control Ion Sphere Particle cihazın doğru okuma yapıp yapmadığını gösteren solüsyondur. Örnek 15.500xg'de 3 dk santrifüj edilir. Geriye 10 ul kalacak şekilde süpernatant dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır.
- Pelletin üzerine 15 ul dilue edilmemiş Ion S5 Annealing Buffer eklenerek total hacim 25 ul'ye getirilir.
- 20 ul Sequencing Primer eklenir ve total hacmin 45 ul olup olmadığı kontrol edilir, eksik varsa Annealing Buffer ile hacim tamamlanır.
- 95C'de 2 dk 37C'de 2 dk inkübe edilir.
- İnkübasyon sonrası örneğe 6 ul Sequencing Polymerase ve 10 ul Ion S5™ Loading Buffer eklenerek iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilir.
- Okuma alınacak örnek chipe yüklenir. 40 ul'si Loading port'tan 20 ul'si chip loading well'den yüklenir. 10 dk chip santrifüjünde santrifüj edilerek örneğin chipin her yerine tüm kuyucuklarına yayılması sağlanır. 1.5-mL tüpte 900 uL of 50% Annealing Buffer ile 100 uL of Foaming Solution (10% Triton™ X-100) karıştırılarak köpürtülür. 100 ul bu köpükten çekilerek chipe loading porttan yüklenir ve bu işlem totalde 4 kez gerçekleştirilir.

- 100 uL 50% Annealing Buffer chip loading porttan yüklenir, exit well'den dışarı çıkan sıvı uzaklaştırılır. Bu işlem de 4 kez tekrar edilir.
- Chip cihaza yüklenerek dizileme reaksiyonu başlatılır. Çalışmanın gidişatı ve sonucu Ion Torrent Server Browser'dan online olarak takip edilebilir.
- Cihazın çalışması bittiğinde Ion Torrent Server ve online data analizi programları ile data analizleri gerçekleştirilir.

Çalışmamızın diğer kolunda ise Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik Biriminde 2016-2020 arasında AAA tanısı almış hastalar incelenerek yaşı 18 ve üzerindeki hastalar seçilerek 1000 hasta çalışmaya dahil edildi. 18 yaş ve üzerinde seçim kriteri öncelikli olarak belirlendi. 1000 hasta arasından randomizasyon yöntemiyle 100 hasta seçilmiştir. Seçilen hastalar telefon ile aranarak apandektomi öyküsü, operasyon yaşı, hatırlıyorsa patoloji tipi veya hastanede kaç gün yattığı, ameliyat sonrasında atak sıklığında değişiklik olup olmadığı, ilaç kullanım öyküsü sorgulandı. Opere edilen hastalar EÜTFH'de opera edilmediği için patoloji sonuçları öneme alınmayarak operasyon sonrası hastanede kaç gün yattıkları sorgulandı. Komplike apandisitli hastalar, hastanede post operatif en az 3 gün yatış öyküsü olacağı ön görülmesi nedeniyle, 3 gün ve üzeri yatış komplike apandisit olarak kabul edildi. Daha erken taburculuk öyküsü, kesin patoloji sonucu olmaması nedeniyle negatif apandisit veya non-komplike olarak ayırt edilemeyeceğinden, apandisitler non-komplike (non perfore ve negatif apandektomiler) ve komplike olarak iki grupta incelenerek istatistiksel analizler yapıldı.

Kliniğimizde AAA tanısı almış, elektif ve acil şartlarda opera edilen hastalar da çalışmamızda yer almaktadır. Bu hastaların yaş, patolojik özellikleri, post operatif şikayetlerinde değişiklik durumları incelenmiştir.

BULGULAR

2016-2020 arasında EÜTF Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik bölümünde AAA tanısı almış ve 18 yaş üzerinde olan 1000 hastadan sade gelişigüzel örnekleme ile 100 hasta seçilerek çalışmaya alındı. Olgu formu hazırlanarak uygun sorular hazırlandı ve hastalar telefonla aranarak aşağıdaki bilgilere ulaşıldı:

- AAA nedeniyle ilaç kullanımı
- Apendektomi operasyonu geçirip geçirmediği
- Geçirdiyse kaç yaşında ve komplike apandisit olup olmadığı
- Operasyon sonrasında ataklarda değişiklik olup olmadığı

Bu çalışma grubundan apandisit geçirmiş hastalar komplike ve non-komplike olarak iki grupta incelendi. Ameliyat geçiren hastalar Türkiye'nin farklı yerlerinde opere olduklarından kesin patoloji raporlarına ulaşmak mümkün olmadı, bu nedenle perfore ve non-perfore (negatif apendektomiler de bu gruba dahil edilerek) sınıflandırıldı. Hastanede üç günden fazla süreli yatışı olanlar perfore, daha az sürede taburcu olanlar non-perfore (non-komplike ve negatif apendektomi) apandisit olarak kabul edildi.

Sorgulama sonucu, toplam 100 hastadan (56 kadın, 44 erkek) 13 hastaya (%13) apendektomi uygulandığı öğrenildi. Ortalama operasyon yaşı 18.7 (9-30) yıl olan 13 hastanın tümü non-perfore olarak belirlenmiş ve komplike apandisit görülmemiştir. On üç hastanın 7'si erkek (%53), 6'sı kadındı (%47). Operasyon sonrasında 1 hastada (%7.6) atak sıklığında artma olduğu belirlendi. Altı hasta (%46) düzenli kolşisin kullanmaktaydı.

Toplumda ve AAA tanılı hastalar arasında apendektomi oranının karşılaştırılması için binom orantı testi kullanıldı. %95 güven aralığında (%7.11-%21.20), AAA tanılı hastalarda apendektomi oranı anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.009$) (Tablo 16).

Tablo 16. AAA hastalarda apendektomi güven aralığı ve AAA hastalarının toplum ile apendektomi oranının karşılaştırılması

Binom orantı güven aralığı		
Oran = 0.1300		
Tip	95% Güven aralığı	
Clopper-Pearson (Exact)	0.0711	0.2120

Toplum ile oran = 0.07	
One-sided Pr > Z	0.0093

Bu hasta grubunda komplike ve non-komplike apandisit alt grupları ayrılarak bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmamıştır.

EÜTF Hastanesi Çocuk Cerrahisi Kliniğinde 2016-2020 arasında apendektomi olan 739 hastadan 500 hasta gelişigüzel örnekleme ile seçilerek incelendi. Patoloji sonuçları göz önüne alındığında 57 negatif apandisit (appendix vermiformis) (%11,4), 88 komplike apandisit (perfore) (%17,6), 355 non-komplike apandisit (akut, flegmanöz, parazitik, gangrenöz) (%71) görüldü. İstatistiksel olarak yaş, cinsiyet kriterlerine göre tabakalandırılarak her gruptan 32 hasta randomize şekilde çalışmaya dahil edildi.

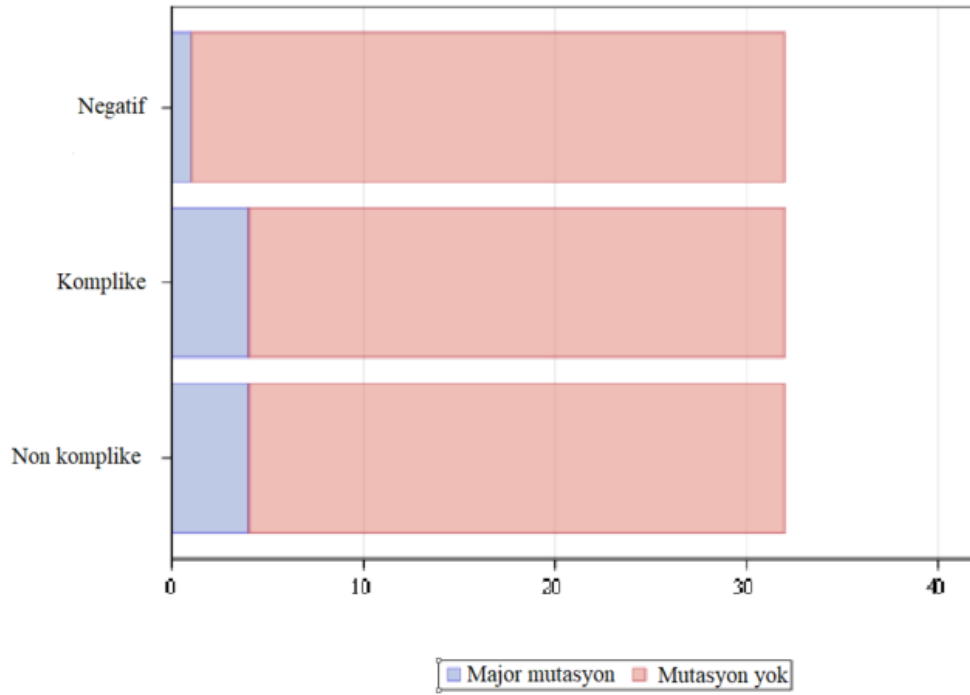
Toplam 96 hastadan 17 hastada 11 farklı AAA mutasyonu (M694V, E148Q, V726A, M680I, P369S, K695R, R761H, A744S, T267M, E230K, L709R) saptandı. Ancak klinik olarak tedavi gerektiren, 9 hastada (%9,38) toplam 6 mutasyon mevcuttu (M694V, M680I, K695R, R761H, A744S, L709R). İstatistiksel karşılaştırmaya bu dokuz hasta dahil edildi.

Otuz iki negatif apendektomili hasta arasında bir hastada (%3,1, M694V), flegmanöz apandisitli otuz iki hasta arasında dört hastada (%12,5)(R761H,A744S,M680I,M694V), perfore apandisitli otuz iki hasta arasında dört hastada (%12,5)(M694V,L709RV726A) tedavi gerektiren mutasyon saptandı. Perfore apandisitli grupta 2 hastada M694V mutasyonu görülmüştür (Tablo 17)(Şekil 2).

Tablo 17. Mutasyon saptanan hastaların patolojik alt gruplara göre dağılımı

	Alt gruplar			
	Non-komplike	Perfore	Negatif	Total
Major Mutasyon	4	4	1	9
	4.17	4.17	1.04	9.38
	44.44	44.44	11.11	
	12.50	12.50	3.13	
Normal	28	28	31	87
	29.17	29.17	32.29	90.63
	32.18	32.18	35.63	
	87.50	87.50	96.88	
Total	32	32	32	96
	33.33	33.33	33.33	100.00

* Klinik açıdan anlamlı olan mutasyonlar majör mutasyon olarak not edildi.



Şekil 2. Mutasyon saptanan hastaların, saptanmayanlara göre dağılımı

Elde edilen AAA oranı, toplumla karşılaştırıldı. Toplumda AAA oranı 1/1000 olarak kabul edilmektedir (2,3). Binom oranı testi kullanılarak yapılan karşılaştırmada, %95 güven aralığında apendektomili hastalarda AAA saptanma oranı topluma göre yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$) (Tablo 18)

Tablo 18. AAA mutasyon saptanan hastaların güven aralığı ve AAA mutasyon saptanan hastaların, toplumdaki AAA sıklığına göre karşılaştırılması

Binom oranı güven aralığı		
Oran = 0.0938		
Tip	95% Güven aralığı	
Clopper-Pearson (Exact)	0.0438	0.1705
Binom testi		
Test of H0: Oran = 0.001		
One-sided Pr > Z	<.0001	
Two-sided Pr > Z	<.0001	

Mutasyon saptanan alt gruplar arasında yapılan karşılaştırılmada gruplar arasında fark saptanmamıştır. (Tablo 19)

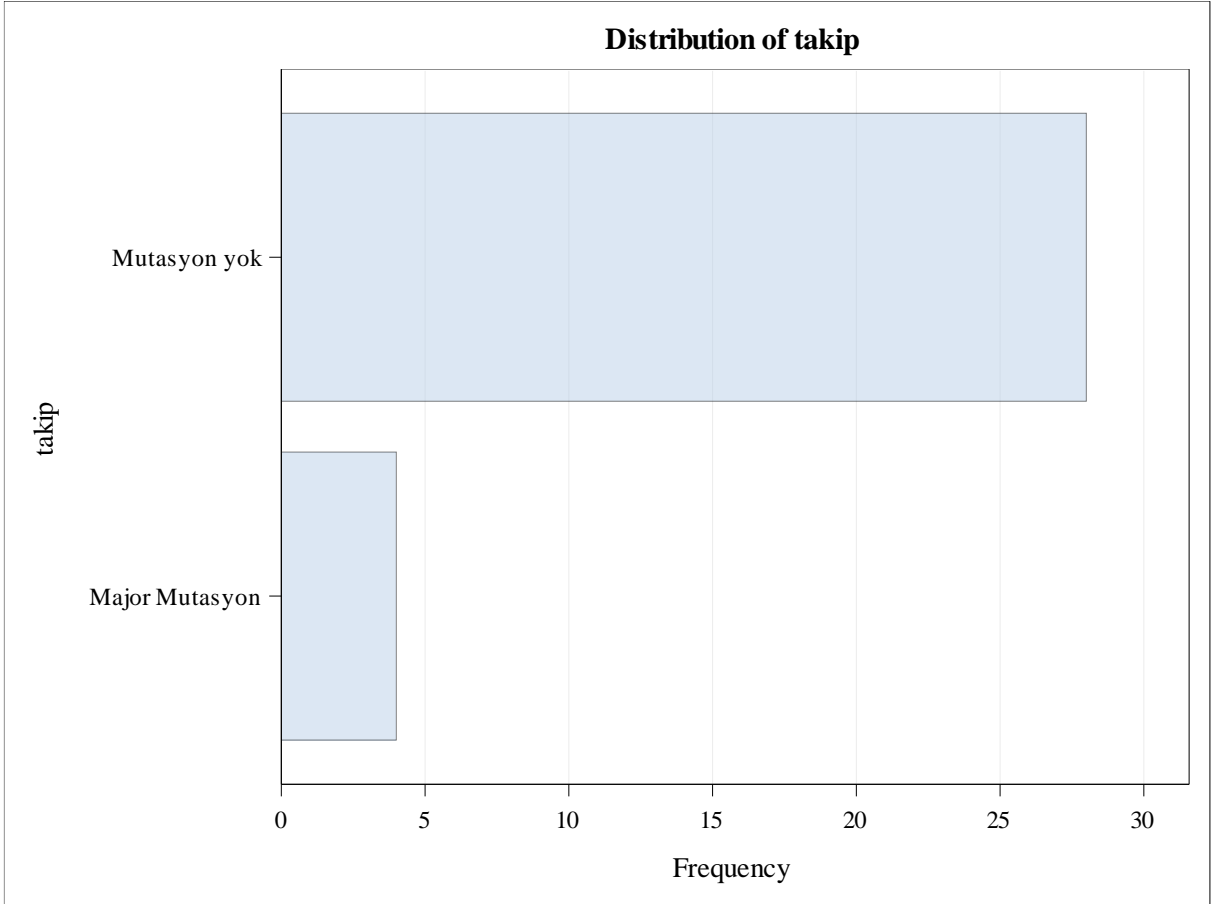
Tablo 19. Mutasyon saptanan alt gruplar arasında yapılan karşılaştırılma

Fisher's Exact Test	
Pr <= P	0.3819

Alt grupların ayrı ayrılıkta toplum ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 20,21,22)(Şekil 3,4,5).

Tablo 20. Non komplike grubu karşılaştırılması ve güvenlik aralığı

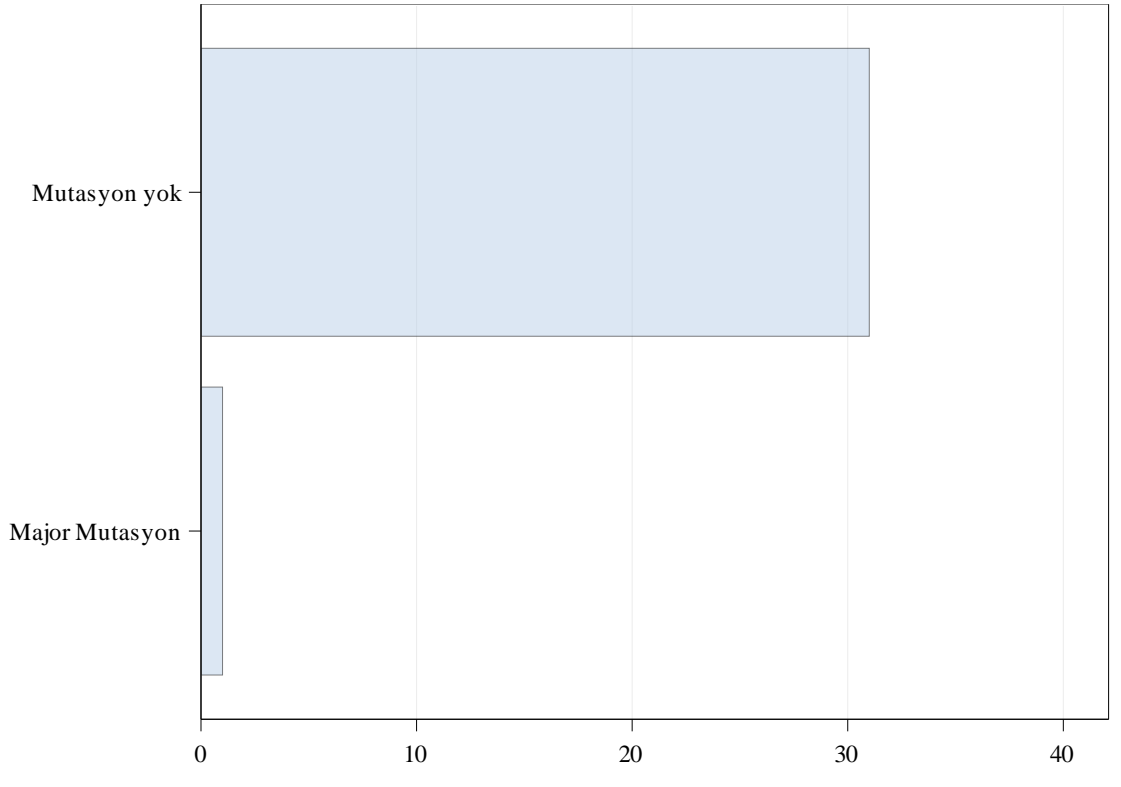
	Sayı	Yüzde	Toplam sayı	Toplam yüzde
Major Mutasyon	4	12.50	4	12.50
Mutasyon yok	28	87.50	32	100.00
Binom orantı güven aralığı				
Oran = 0.1250				
Tip	95% Güven aralığı			
Clopper-Pearson (Exact)	0.0351		0.2899	



Şekil 3. Flegmanöz grubu frekans aralığı

Tablo 21. Negatif apendektomi grubu karşılaştırılması ve güven aralığı

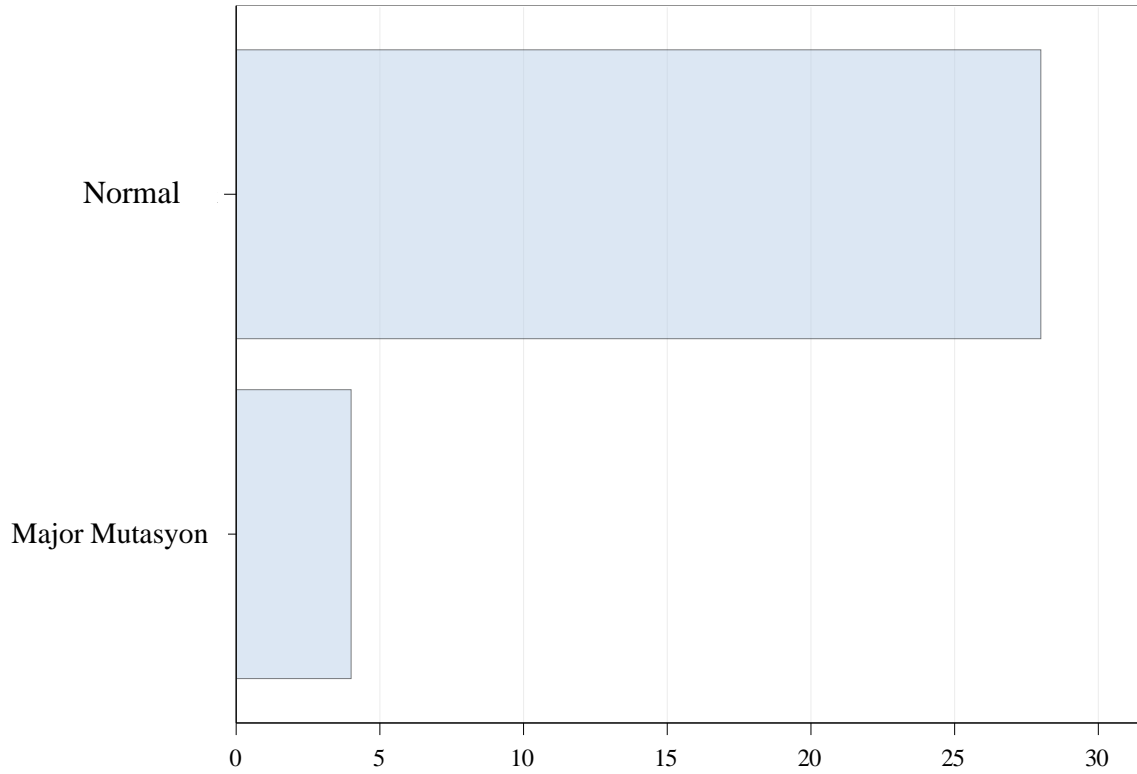
	Sayı	Yüzde	Toplam Sayı	Toplam Yüzde
Major Mutasyon	1	3.13	1	3.13
Normal	31	96.88	32	100.00
Binom orantı güven aralığı				
Oran = 0.0313				
Tip	95% Güven aralığı			
Clopper-Pearson (Exact)	0.0008	0.1622		



Şekil 4. Apandiks Vermiformis grubu frekans aralığı

Tablo 22. Perfore grubu karşılaştırılması ve güven aralığı

	Sayı	Yüzde	Toplam Sayı	Toplam Yüzde
Major Mutasyon	4	12.50	4	12.50
Normal	28	87.50	32	100.00
Binom orantı güven aralığı				
Oran = 0.1250				
Tip	95% Güven aralığı			
Clopper-Pearson (Exact)	0.0351	0.2899		



Şekil 5. Perfore grubu frekans aralığı

TARTIŞMA

AAA hastalığı poliserozit ve ateş yüksekliği ile seyreden otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır. Genelde klinik olarak tanısı konulmaya çalışılan bu hastalıkta genetik analizlerin tanıdaki yeri kısıtlıdır ve laboratuvar belirteçleri ile tanı konulması mümkün değildir. Çocukluk çağında tekrarlayan karın ağrılarına sebep olması nedeniyle akut batının en sık cerrahi sebebi olan apandisit ile sıklıkla karışmakta ve gereksiz negatif apendektomilere neden olabilmektedir. Apendisitte görülen umbilikal ağrının sağ alt kadrana yayılması, iştah kesilmesi, kusma ve diğer klasik klinik tablolar hastaların sadece %50 sinde görülmektedir. Bu nedenle apandisit olduğu halde AAA atağı gibi tedavi edilmeye çalışılan hastalarda, durumun komplike apandisit ile sonuçlanma olasılığı yüksektir. Bazı çalışmalarda bu grup hastalara apandisit tablosunun ileride oluşturacağı komplikasyonlardan kaçınmak nedeniyle elektif apendektomi uygulanması önerilmektedir. Ancak daha sonra takiplerinde bu hastalarda atak sıklıklarında artma, batın içinde adezyonlar gelişebileceği ve ek cerrahilerin gerekebileceği görülmüştür (39).

Bilinen AAA tanısı olmayan, akut batın nedeniyle hastaneye başvuran ve ameliyat edilen hastaların arasında altta yatan AAA hastalığı insidansına dair kapsamlı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bir çalışmada sadece patoloji sonucu negatif apendektomi veya normal apendiks olarak saptanan hastalarda AAA oranı %7.7 olarak bildirilmiştir (7). Operasyon sonrasında patoloji sonuçları normal veya apandisit olan bazı hastaların erken dönemde şikayetlerinin sürdüğü ve düşük hayat kalitesine sahip olmalarının altta yatan henüz tanı koyulmamış AAA hastalığına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızın ilk kolunda EÜTF Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik bölümünde 2016-2020 yılları arasında FMF tanısı almış 1000 hasta içinden rastgele randomizasyon yöntemiyle seçilen 100 hastayla yapılan telefon görüşmesinde 13 hastanın apendektomi olduğu öğrenildi. Tüm hastalar hastaneye başvurma esnasında karın ağrıları ortak semptom olarak bulundu. Hastaların 6 sı düzenli kolşisin kullanmaktaydı. Tüm opere edilen hastalar dış merkezlerde opere olduklarından patoloji sonuçlarına ulaşamadı ancak bu hastaların hastanede kalma tedavi sürelerinden komplike ve non komplike olarak sınıflandırılması yapıldı. Telefonla yapılan ankette apendektomi geçiren hastaların opere oldukları hastanede, taraflarına apendikslerinin perfore olmadığı doktorları tarafından söylenmiş ve bu hastalar en geç 1 gün sonra taburcu edilmişler. %13 oranında apendektomi geçiren hastaların hepsi non-komplike grup olarak değerlendirilmiştir. Hiçbir hastada post operatif komplikasyon izlenmemiştir. AAA

tanılı hastalar arasında apendektomi oranında normal popülasyona göre görülen artış istatistiksel olarak anlamlı (%95 güven aralığında (%7.11-%21.20) anlamlı derecede yüksek ($p=0.009$) saptanmıştır. Buna rağmen gruplar göz önüne alındığında, komplike ve non-komplike, ayrı ayrılıkta istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak komplike veya non-komplike apandisit oranı arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Daha önce bahsettiğimiz gibi, AAA tanılı hasta akut batın tablosuyla hastaneye başvurduğunda apandisit veya AAA atağının ayırt edilmesi güç olmaktadır ve bu durumda klinisyen tarafından en çekinilen konu, apandisit komplike olmasıdır. Ancak yaptığımız çalışma, apendektomi olan hastaların hiçbirinde komplike apandisit saptanmaması, şüphe durumunda hastanın takibinin devam edilebilirliği yönünde yorumlanabilir. Bu çalışmada opere edilen hastaların patoloji sonuçlarına ulaşamamız, çalışmanın daha da detaylı bir sonuca varılabilirliğini kısıtlamakta. Ancak bu araştırmada hasta sayımızın çok olması, çalışmamızın sonucunu anlamlı ve güçlü kılmaktadır. Benzer çalışma 2005 yılında Türk AAA Çalışma Grubu (AAA-TR) tarafından erkek:kadın oranı 1.2:1 olan 2328 hastadan (ortalama yaş, 23.0 ± 13.33 yıl; aralık, 2-87 yıl) oluşan bir araştırma yapıldı. Hastalığın başlangıcından tanıya kadar ortalama $6,9 \pm 7,65$ yıl vardı. Hastaların klinik özellikleri arasında peritonit (%93,7), ateş (%92,5), artrit (%47,4), plörit (%31,2), miyalji (%39,6) ve erizipel benzeri eritem (%20,9) mevcuttu. Artrit, artralji, miyalji ve erizipel benzeri eritem, hastalığı 18 yaşından önce başlayan hastalarda anlamlı olarak daha sıklıkla ($p < 0.001$). Bu hastaların geçirdiği ameliyatlar arasında apendektomi %19 oranla en önde gelen karın ameliyatı olarak saptanmıştır (27). İsrail'den bir çalışma grubunda 104'ü (%57,1) kadın olmak üzere ardışık 182 AAA hastası çalışmaya dahil edilmiş, 182 hastanın 71'ine (%39) apendektomi uygulanmıştır. Apendektomilerin histolojik örneklerinin sadece 13'ünde (%18.3) apendikte akut inflamasyon kanıtı mevcutken, 6'sında (%8.4) periapandisit belirlenmiş, olguların 29'unda (%40.8) herhangi bir inflamasyon kanıtı görülmediği belirtilmiştir. Apendikslerin dördü (%5.6) elektif olarak çıkarıldı. Geri kalan kısımda ise patoloji bilinmemektedir. Ancak, ameliyat edilen hastaların sadece %57,6'sı apendektomiye yol açan atak sırasında benzer bir ağrı dağılımı tanımlamıştır(40).Gazi Üniversitesi, Hacettepe Üniversitesi ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hastaneleri olmak üzere üç üniversite hastanesinin romatoloji polikliniklerinde takip edilen 971 erişkin AAA hastası Ocak 2018 ile Aralık 2018 tarihleri arasında incelenmiş, AAA tanısı Tel Hashomer kriterlerine göre konulmuştur. 240 (%24.7) olguda apendektomi öyküsü olduğu belirlenmiştir (29). Yapılan tüm benzer çalışmalarda AAA tanılı hastalarda özellikle apendektomi ve batın cerrahisi oranı dikkate alınmış olup, sadece İsrail grubunda patoloji sonuçları ile birlikte detaylı bir çalışma yer almaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada “AAA tanılı hastalarda apendektomi oranı normal toplum göre daha yüksektir” hipotezimiz doğru olup istatistiksel olarak da ısıpatlanmıştır. “AAA tanılı hastalarda komplike apandisit sıklığı normal topluma göre daha yüksektir” hipotezimizde komplike apandisit oranımız 0 olması nedeniyle istatistiksel olarak önemli değer bulunmamasına rağmen klinik açıdan önemi mevcuttur. “AAA tanılı hastalarda non-komplike veya negatif apendektomi sıklığı normal topluma göre daha yüksektir “ hipotezimizde apandektomi olmuş hastalarımız patoloji sonuçlarına ulaşamadığından sonuç elde edilmemiştir.

Çalışmamızın diğer kolunda, apendektomi olmuş hastalar arasında, patoloji sonuçlarına göre, AAA insidansının araştırılması yer almıştı. Toplam 17 hastada MEFV mutasyonu saptansa da, klinik takip ve tedavi gerektiren gen mutasyonu olan 9 hasta ana grup olarak belirlendi. Perfore grubunda 4 hasta, akut grubunda 4 hasta ve negatif apandisit grubunda 1 hasta saptandı. Mutasyon saptanan hastaların ortalama operasyon yaşı 8.7 (2-14) olarak bulundu. Hasta dağılımı Tablo 23 ve 24’de verilmiştir.

Tablo 23. Gruplarda saptanan tüm mutasyon tipleri

Grup	Hasta sayısı	Mutasyon
Perfore	5	M694V(2), L709R, E167D/V726A, K695R,
Akut	6	R761H, A744S, M680I, M694V, E148Q, V726A
Negatif	6	M694V, T267M, L110P/E148Q, P369S/R408Q, E230K

Tablo 24. Gruplarda saptanan takip ve tedavi gerektiren mutasyon tipleri

Grup	Hasta sayısı	Mutasyon
Perfore	4	M694V(2), L709R, E167D/V726A
Akut	4	R761H, A744S, M680I, M694V
Negatif	1	M694V

Perfore grubunda yer alan AAA hastaları tüm hastaların %4.17'sini, aynı grup içinde %12.50, AAA hastaları arasında ise %44.44 olarak saptanmıştır. Non-komplike grubunda yer alan hastaların sonuçları perfore grubu ile benzerlik göstermekte olup aynı oranlara sahiptir. Negatif grubunda yer alan AA hastaları tüm hastaların %1.04'nü, aynı grup içinde %3.13, AAA hastaları arasında ise %11.11 olarak saptanmıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak yaş (P=0.9906) ve diğer faktörler açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (P=0.381). Literatüre baktığımız zaman, bizim çalışmamıza benzer ancak sadece negatif apendektomiler için yapılmış bir çalışma mevcuttur. Kısacık ve ark.'ının 2012 yılında yayınladığı makalede, 278 hastanın (127 kadın, 151 erkek) 250 sinde histopatolojik olarak apandisit tanısı, 28'inde ise negatif apendektomi saptanmıştır. 28 Hastanın yapılan genetik araştırmasından 2 hastaya AAA tanısı konulmuştur (%7.7). (38) Bu çalışmada Tel-Hashomer kriterleri kullanılarak yapılmıştır. Saptanan iki hastanın mutasyonları M680I ve V726A/M680I'dır. Ana hipotezlerimizden "Negatif apendektomili hastalarda AAA saptanma oranı komplike ve non-komplike apandisitli hastalardaki AAA saptanma oranından anlamlı derecede yüksektir" olanı, istatistiksel olarak anlamsızdır (P=0.381). Sayının istatistiksel olarak bir anlamı olmasa da, AAA tanısı almış negatif apendektomili hastalar diğer gruplara göre az saptanmıştır. Aynı zamanda "Komplike apandisit nedeniyle opere olan hastalarda altta yatan AAA hastalığı olma olasılığı diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksektir" hipotezimiz de istatistiksel olarak ıspatlanamamış olup doğru bulunmamıştır. Literatürde bizim çalışmamızda olduğu kadar patoloji sonuçlarına göre araştırılmaya rastlanmamıştır. Karşılaştırılma olarak başka çalışma kullanılmadığından çalışma gücü değerlendirilememektedir. Daha önce de belirtildiği gibi gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmasa da, hasta sayısı arttırılmakla gruplar arasında önemli bir fark saptanacağı düşünülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışma hastaların Tıbbi Patoloji AD'da saklanılan apendektomi preparatlarından alınmıştır. Bu preparatlar formalde parafinize olarak saklanılmakta. Bu dokuların çalışılması için, dokuların öncelikle deparafinizasyonu, denatürizasyonu ve DNA izolasyonu yapılarak mutasyon araştırılması demektir. Çalışma

sırasından en zorlanılan kısım, DNA dizilerinin formal tarafından ciddi şekilde hasarlanması sonucu onların onarım safhası olmuştur. Öncelikle Sanger sekanslama yöntemi kullanılsada, özellikle en çok mutasyonun bulunduğu 2. Ve 10. ekzonun taranması mümkün olunamamıştır. NGS (Next Generation Sequencing) yöntemine geçilerek daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada örnek sayısının arttırılması ciddi maliyetlere sebep olacağından 96 hasta ile çalışma devam edilmiştir. Hastaların taranması kan örneğinden de yapılması mümkün bir seçenek, fakat tabakalandırılarak randomize seçilen hastaların en önemli ulaşılabilirliği ve invaziv girişim açısından, dokudan mutasyon çalışılma yöntemi EÜTF Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik birimi ile de planlanarak gerçekleştirilmesi uygun görülmüştür.

Gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmasa da, apendektomili hastalarda AAA saptanması oranının topluma göre artışında istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmaktadır ($P<0.001$). “Apendektomili hastalar arasında AAA olma olasılığı genel topluma göre daha siktir” hipotezimiz doğrulanmıştır.

Mutasyon saptanan 9 hastanın 6’dan anamnez almak mümkün olmuştur. Sadece 2 hastanın aktif şikayetleri olduğu bulundu. 1 hastanın aralıklı karın ağrısı ve ateş yüksekliği, diğer hastanın ise periyodik karın ağrısı ve ateş yüksekliğine ek olarak sık enfeksiyon öyküsü olduğu öğrenildi. Tüm hastaların aileleri EÜTF Çocuk Hastalıkları Moleküler Genetik birimine başvurması konusunda bilgilendirilmiştir.

Her iki çalışma göz önüne alındığında AAA hastalığının toplumda hem apendektomi hem de patolojik olarak farketmeksizin, apandisit insidansını arttırdığını görmüş ve ıspatlamış olduk.

AAA tanılı hastalarda AAA atağı düşünülerek apandisit atağının atlanabileceği ve komplikasyonlarla sonuçlanabileceği düşünüldüğü için, özellikle çocukluk çağında elektif apendektomi önerilmiş ve uygulanmış hasta grupları mevcuttur. Bizim kliniğimizde AAA ön tanısıyla 2020 yılına kadar takipli 8 hasta opere edildi. Hastaların 4’ü acil şartlarda, diğer 4’ü ise elektif olarak ameliyat edildi. Telefonla ulaşılabilen 6 hastaya (3 elektif, 3 acil) yapılan anket sonucu, elektif opere edilen 1 hastanın şikayetlerinde dramatik azalma izlenmiş, 1 acil opere edilen hastanın atak sıklığında azalma olmuş, diğer hastaların şikayetlerinde azalma ve ya artış izlenmemiştir. Hiçbir hastada post operatif komplikasyon görülmemiştir. Acil opere edilen 1 hastanın patolojisi Flegmanöz, 1 hastanın Periapandisit, gerikalanın ise Apendiks Vermiformis (Negatif Apendektomi) olarak sonuçlanmıştır. 2006 yılında yapılan bir çalışmada 560 AAA hastasından 89 apendektomi uygulanan hasta değerlendirilmiştir. %81’ine laparotomi ile apendektomi uygulanmış. 6 hastada intestinal obstruksiyon gelişmiş, 4 hastaya

laparotomi ve bridektomi uygulanmış (39). Mevcut çalışmada patoloji ile ilgili detaylı bilgi verilmesi de post operatif bağırsak obstrüksiyonlarının ileride tekrar eksplorasyon gerektirebileceği gösterilmiş. Fakat günümüzde artık laparotomi ile apendektomi artık çok az merkezde mevcut olup minimal invaziv yöntemler üstün tutulmaktadır. Bu da, periton bütünlüğünün minimal derecede bozulmasına ve hızlı iyileşmesine yol açmaktadır. Bir başka çalışmada yanlış tanı ve gereksiz acil operasyonları önlemek amacıyla, 13 AAA tanılı hastaya elektif laparoskopik apendektomi uygulanmış. 8-32 yaş aralığında bulunan hasta grubunda, yılda ortalama 3.5 kere atak sıklığı mevcut olduğu belirtilmiştir. 3 veya 4 trokarlı uygulanan ameliyatlarda ortalama işlem süresi 63 dk olarak bildirilmiştir. 1 hastada, 1 port yerinde yüzeysel deri enfeksiyonu dışında herhangi bir komplikasyona raslanmamıştır. 18 aylık takip süresinde, bu hastaların atak sıklığında herhangi bir değişiklik farkedilmemiştir (41).

SONUÇ VE ÖNERİLER

AAA hastalığı tedavi edilmediğinde ciddi komplikasyonlarla sonuçlanacak otoinflamatuvar bir hastalıktır. Özellikle toplumumuzda en sık yerlerde 1:150 olmakla ortalama 1:1000 oranında görülen bu hastalık en sık çocukluk çağında semptom vermeye başladığından erken tanı ve tedavi, hastalığın daha da ilerlemesine engel olmaktadır. En sık karın ağrısı ve ateş semptomları olması nedeniyle akut batın tablosuyla benzer durumla karşı karşıya kalınmakta. Bu nedenle, bir çok AAA tanısı olan hasta atlanabilecek komplike apandisit durumunu önlenmesi açısından gereksiz apendektomi ameliyatı olmaktadır. Bu çalışmada AAA tanısı olan hastalarda apendektomi oranının topluma göre yüksek olduğu fakat bu hastalarda komplike apandisitle karşılaşılmadığı görüldü. Çalışmamızın ikinci kısmında, apendektomi olmuş çocuklarda AAA taraması yaptığımız zaman ise, AAA'nin apandisiti arttırdığını ancak patolojik olarak tüm grupları eşit etkilediği sonucuna varıldı. Ülkemizde apendektomi sonrasında hastaların patoloji sonucundan bağımsız, bu hastaların yakından takip edilmesi ve AAA semptomları izlenmesi halinde Çocuk Molekular Genetik bölümüne yönlendirilmesi önerilir.

KAYNAKLAR

1. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, Centola M, Deng Z, Sood R, et al. Familial Mediterranean Fever at the Millennium Clinical Spectrum, Ancient Mutations, and a Survey of 100 American Referrals to the National Institutes of Health. *Medicine* [Internet]. 1998 Jul;77(4):268–97. Available from: <http://journals.lww.com/00005792-199807000-00005>
2. Ozen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, Saatci U, Bakkaloglu A, Koroglu E, et al. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol*. 1998 Dec;25(12):2445–9.
3. James G. Neal. Dinc A, Pay S, Turan M, Simsek I. Prevalence of familial Mediterranean fever in young Turkish men [abstract]. *Clin Exp Rheumatol*. 2000; 18:292. p. 3.
4. Tunca M, Akar S, Hawkins PN, Booth SE, Şengül B, Yavuzşen TU, et al. The significance of paired MEFV mutations in individuals without symptoms of familial Mediterranean fever. Vol. 10, *European Journal of Human Genetics*. 2002. p. 786–9.
5. Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, et al. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. Vol. 9, *European Journal of Human Genetics*. 2001. p. 553–5.
6. Brik R, Shinawi M, Kepten I, Berant M, Gershoni-Baruch R. Familial Mediterranean Fever: Clinical and Genetic Characterization in a Mixed Pediatric Population of Jewish and Arab Patients. *Pediatrics* [Internet]. 1999 May 1;103(5):e70–e70. Available from: <https://publications.aap.org/pediatrics/article/103/5/e70/65400/Familial-Mediterranean-Fever-Clinical-and-Genetic>
7. Majeed HA, El-Shanti H, Al-Khateeb MS, Rabaiha ZA. Genotype/phenotype correlations in Arab patients with familial Mediterranean fever. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* [Internet]. 2002 Jun;31(6):371–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049017202000021>
8. Mimouni A, Magal N, Stoffman N, Shohat T, Minasian A, Krasnov M, et al. Familial Mediterranean Fever: Effects of Genotype and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis. *Pediatrics* [Internet]. 2000 May 1;105(5):e70–e70. Available from: <https://publications.aap.org/pediatrics/article/105/5/e70/66033/Familial-Mediterranean-Fever-Effects-of-Genotype>
9. Bernot A, Clepet C, Dasilva C, Devaud C, Petit JL, Caloustian C, et al. A candidate gene for familial Mediterranean fever. Vol. 17, *Nature Genetics*. 1997. p. 25–31.
10. Dewalle M, Domingo C, Rozenbaum M, Ben-Chétrit E, Cattán D, Bernot A, et al. Phenotype-genotype correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF). *European Journal of Human Genetics* [Internet]. 1998 Jan 12;6(1):95–7. Available from: <http://www.nature.com/articles/5200170>
11. Mansour I, Delague V, Cazeneuve C, Dodé C, Chouery E, Pêcheux C, et al. Familial Mediterranean fever in Lebanon: Mutation spectrum, evidence for cases in Maronites, Greek

- orthodoxes, Greek catholics, Syriacs and Chiites and for an association between amyloidosis and M694V and M694I mutations. Vol. 9, *European Journal of Human Genetics*. 2001. p. 51–5.
12. Dubuc M, Sportouch J, Minodier P, Garnier JM, Kone I, Touitou I. Paediatric Rheumatology / Section Editor : P . Woo Phenotype – genotype correlation in 91 patients with familial Mediterranean fever reveals a high frequency of cutaneomucous features. 2000. p. 1275–9.
 13. Bernot A, Clepet C, Dasilva C, Devaud C, Petit JL, Caloustian C, et al. A candidate gene for familial Mediterranean fever. Vol. 17, *Nature Genetics*. 1997. p. 25–31.
 14. Shohat M, Magal N, Shohat T, Chen X, Dagan T, Mimouni A, et al. Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: Evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. Vol. 7, *European Journal of Human Genetics*. 1999. p. 287–92.
 15. Krane JF. *Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases, Fifth Edition*. Vol. 26, *International Journal of Gynecological Pathology*. 2007. p. 270.
 16. Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, Zaks N, Kastner DL, Pras M, et al. MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Amyloid* [Internet]. 1999 Jan 6;6(1):1–6. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13506129908993281>
 17. Ben-Chetrit E. Amyloidosis induced, end stage renal disease in patients with familial Mediterranean fever is highly associated with point mutations in the MEFV gene. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2001 Feb 1;60(2):146–9. Available from: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/ard.60.2.146>
 18. Ozen S. Familial mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *European Journal of Pediatrics* [Internet]. 2003 Jul 16;162(7–8):449–54. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00431-003-1223-x>
 19. Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, Wood G, Raben N, Liu PP, et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. Vol. 11, *Molecular Cell*. 2003. p. 591–604.
 20. Masumoto J, Dowds TA, Schaner P, Chen FF, Ogura Y, Li M, et al. ASC is an activating adaptor for NF- κ B and caspase-8-dependent apoptosis. Vol. 303, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003. p. 69–73.
 21. Berdeli A, Mir S, Nalbantoglu S, Kutukculer N, Sozeri B, Kabasakal Y, et al. Comprehensive Analysis of a Large-Scale Screen for MEFV Gene Mutations: Do They Truly Provide a “Heterozygote Advantage” in Turkey? *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* [Internet]. 2011 Jul;15(7–8):475–82. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/gtmb.2010.0146>
 22. Livneh A, Langevitz P. Diagnostic and treatment concerns in familial Mediterranean fever. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* [Internet]. 2000 Sep;14(3):477–98. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521694200900895>
 23. Heller H, Gafni J, Michaeli D, Shahin N, Sohar E, Ehrlich G, et al. The arthritis of familial mediterranean fever (FMF). *Arthritis & Rheumatism* [Internet]. 1966 Feb;9(1):1–17. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.1780090102>
 24. Sneh E, Pras M, Michaeli D, Shahin N, Gafni J. Protracted arthritis in familial mediterranean fever. Vol. 16, *Rheumatology*. 1977. p. 102–6.

25. AVI LIVNEH, PNINA LANGEVITZ, DEBORAH ZEMER, NURIT ZAKS, SALIM KEES, TZVT LIDAR, AMIEL MIGDAL. SHAI PADEH MP. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1879–85.
26. Korkmaz C. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2002 Jan 1;61(1):79–81. Available from: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/ard.61.1.79>
27. Lachmann HJ, Şengül B, Yavuzşen TU, Booth DR, Booth SE, Bybee A, et al. Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations. *Rheumatology* [Internet]. 2006 Jun 1;45(6):746–50. Available from: <http://academic.oup.com/rheumatology/article/45/6/746/1785056/Clinical-and-subclinical-inflammation-in-patients>
28. Tunca M, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, Ozen S, Topaloglu R, et al. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey: Results of a nationwide multicenter study. Vol. 84, *Medicine.* 2005. p. 1–11.
29. BODAKÇI E, YAŞAR BİLGE NŞ, ATAŞ N, ARMAĞAN B, SATIŞ H, SARI A, et al. Appendectomy history is associated with severe disease and colchicine resistance in adult familial Mediterranean fever patients. *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES* [Internet]. 2021 Aug 30;51(4):1706–11. Available from: <https://journals.tubitak.gov.tr/medical/issues/sag-21-51-4/sag-51-4-15-2011-74.pdf>
30. Hale S A, I FM, çduygu,** Asuman Özgöz *, Gökhan Akbulut, •, Kuyas, Hekimler, et al. SURGERY FOR ACUTE ABDOMEN AND MEFV MUTATIONS IN PATIENTS WITH FMF. p. 520–4.
31. ADDISS DG, SHAFFER N, FOWLER BS, TAUXE R v. THE EPIDEMIOLOGY OF APPENDICITIS AND APPENDECTOMY IN THE UNITED STATES. *American Journal of Epidemiology* [Internet]. 1990 Nov;132(5):910–25. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article/88731/THE>
32. Lidar M, Doron A, Kedem R, Yosepovich A, Langevitz P, Livneh A. Appendectomy in familial Mediterranean fever: clinical, genetic and pathological findings. *Clin Exp Rheumatol* [Internet]. 26(4):568–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18799086>
33. Zissin R, Rathaus V, Gayer G, Shapiro-Feinberg M, Hertz M. CT findings in patients with familial Mediterranean fever during an acute abdominal attack. *The British Journal of Radiology* [Internet]. 2003 Jan;76(901):22–5. Available from: <http://www.birpublications.org/doi/10.1259/bjr/32051823>
34. Serkan Arslan1, Bahattin Aydogdu1, Mehmet Serif Arslan1, Hikmet Zeytun1, Mehmet Hanifi Okur1, Erol Basuguy1, Ali Erdal Karakaya2, Ibrahim Uygun1 SO. Analysis of Risk Factors for Appendicitis in Children: A Multicenter Epidemiological Study. *Dicle Tıp Dergisi* [Internet]. 2016 Dec 25;43(4):549–549. Available from: <https://dergipark.org.tr/tr/doi/10.5798/diclemedj.0921.2015.01.0521>
35. Sulu B, Günerhan Y, Palanci Y, İşler B, Çağlayan K. Epidemiological and demographic features of appendicitis and influences of several environmental factors. Vol. 16, *Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi.* 2010. p. 38–42.
36. Sander S. A review of the studies about appendicitis of the Turkish Pediatric Surgical Centers and a preliminary study to form a publishing index for pediatric appendicitis. *Turkish Association of Pediatric Surgeons* [Internet]. 2016; Available from:

<http://cocukcerrahisidergisi.org/jvi.aspx?pdire=cocukcerrahisi&plng=tur&un=CCD-41275&look4=>

37. Colson M, Skinner KA, Dunnington G. High negative appendectomy rates are no longer acceptable. Vol. 174, *American Journal of Surgery*. 1997. p. 723–7.
38. Kisacik B, Karabicak I, Erol MF, Ozer S, Pehlivan Y, Onat AM, et al. Is familial Mediterranean fever (FMF) common in patients with negative appendectomy? *Modern Rheumatology* [Internet]. 2013 Mar 30;23(2):330–3. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10165-012-0688-8>
39. Berkun Y, Ben-Chetrit E, Klar A, Ben-Chetrit E. Peritoneal Adhesions and Intestinal Obstructions in Patients with Familial Mediterranean Fever—Are They More Frequent? *Seminars in Arthritis and Rheumatism* [Internet]. 2007 Apr;36(5):316–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004901720600165X>
40. Lidar M, Doron A, Kedem R, Yosepovich A, Langevitz P, Livneh A. Appendectomy in familial Mediterranean fever: Clinical genetic and pathological findings. *Clinical and Experimental Rheumatology* [Internet]. 2008;26(4):568–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18799086/>
41. Reissman P, Durst AL, Rivkind A, Szold A, Ben-Chetrit E. Elective laparoscopic appendectomy in patients with familial Mediterranean fever. Vol. 18, *World Journal of Surgery*. 1994. p. 139–41.

EKLER

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ UZMANLIK TEZ ÖNERİSİ FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı, Soyadı	JAVİD NAGHİYEV
Uzmanlık Öğrencisinin Elektronik Posta Adresi	
Uzmanlık Öğrencisinin Cep Telefonu	
Anabilim/Bilim Dalı	ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
Danışman Öğretim Üyesinin Unvanı, Adı, Soyadı	DOÇ.DR. EMRE DİVARCI
Türkçe Tezin Başlığı	Çocuklarda Apendisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi
İngilizce Tezin Başlığı	Clinically and Genetically Evaluation of the Relationship Between Appendicitis and Familial Mediterranean Fever in Children
Öngörülen Başlama ve Bitiş Tarihi	07.2021/05.2022
Destek Alınacak Kuruluş(lar) (BAP, TÜBİTAK, özel sektör vb.)	BAP
Tezin Amacı ve Özeti	<p>Çocuklarda apandisit ile ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalığı arasındaki klinik ilişki halen net olarak ortaya konulamamıştır. AAA hastalığında artmış inflamasyona bağlı daha sıklıkla apandisit kliniği gelişebileceği ön görülmesine rağmen bunun çocuklarda oranı ve ilişkisi net değildir. Diğer açıdan apandisitli hastalarda AAA saptanma olasılığı da bilinmemektedir. Özellikle komplike apandisitlerde ve apandisit şüphesiyle opere edilen ancak patolojik apandisit tanısı almayan negatif apendektomilerde AAA hastalığının daha sık gözlenip gözlenemeyeceği bilinmemektedir.</p> <p>Bu çalışmanın iki kolu bulunacaktır. Birinci kolda bilinen AAA hastalığı tanılı hastalar, diğer kolda ise apandisit nedeniyle kliniğimizde opere edilmiş hastalar bulunacaktır. Bu iki kolda çeşitli klinik sorular irdelenerek çocuklarda apandisit ve AAA hastalığı arasındaki ilişkinin klinik ve genetik açıdan ayrıntılı değerlendirilmesi amaçlanmıştır. AAA tanısı olan hastalarda apendektomi oranının topluma göre yüksek olduğu fakat bu hastalarda komplike apandisit ile karşılaşılmadığı görüldü. Çalışmamızın ikinci kısmında, apendektomi olmuş çocuklarda AAA taraması yaptığımız zaman ise, AAA'nin apandisiti arttırdığını ancak patolojik olarak tüm grupları eşit etkilediği sonucuna varıldı. Apendektomi sonrasında hastaların patoloji sonucundan bağımsız, bu hastaların yakından takip edilmesi ve AAA semptomları izlenmesi halinde Çocuk Molekular Genetik ve Çocuk Romatoloji bölümüne yönlendirilmesi önerilir.</p>
Tezin Yapılacağı Merkez(ler)	EÜTF ÇOCUK CERRAHİSİ AD, EÜTF MOLEKULAR GENETİK AD, EÜTF TIBBİ PATOLOJİ AD
Tezde Görev Alacak Personel	Javid Naghiyev, Emre Divarci, Afig Berdeli, Başak Doğanavşargil Yakut
Tezin Gereç ve Yöntemi	<p>Bu çalışmada komplike/non-komplike/negatif apendektomilerde AAA oranının saptanması ve AAA tanılı olgularda apendektomi insidansinin belirlenmesi amaçlanmıştır.</p> <p>Bu nedenle:</p> <ol style="list-style-type: none">1) Kliniğimizde 2016-2020 yılları arasında apendektomi uygulanmış hastaların patoloji preparatlarından AAA gen mutasyonu çalıştırılarak, apendektomi hastalarında AAA sıklığını belirlemek.2) 2016-2020 yılları arasında EÜTF Molekular Genetik laboratuvarında AAA tanısı almış hastalarda apendektomi sıklığı ve varsa komplikasyonlarını ortaya koymak. <p>Alınan tüm veriler "Binomial propoirtin confidence interval" (Binom oranı güven aralığı) yöntemi ile analiz edilerek sonuçlar ortaya konulacaktır.</p> <p>Literatürde AAA tanılı hastalarda apandisit veya negatif apendektomili hastalarda AAA sıklığı</p>

belirlenmesi başlığıyla literatürde çok az sayıda makale bulunmakla birlikte, bu çalışmalarda da hasta sayısının oldukça az olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda sadece negatif apendektomili değil, aynı zamanda hem non-komplike ve komplike apandisitlerde AAA sıklığı saptanması amaçlanmıştır. Özellikle çocuklarda komplike ve non-komplike apandisit AAA yönünden incelenmesi açısından literatürde herhangi bir veri olmadığından, yapacağımız çalışma ile literatüre büyük katkı sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

Çalışmamız 24.09.2021 tarihinde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından E-99166796-050.06.04-331105 Sayı numarası ve 21-9.1T/19 Onay kararı ile onaylanmıştır ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından Proje no:23475 olarak desteklenmiştir.

2016-2020 yılları arasında kliniğimizde apendektomi uygulanmış ve sonuçlarına göre, non-komplike, komplike ve negatif apendektomili hastaların patoloji preparatlarından doku örnekleri EÜTF Patoloji Anabilim Dalı'ndan alınarak, EÜTF Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında DNA izolasyonu işlemi sonrasında AAA taraması uygulandı. Toplam 739 hastadan 500 hasta randomizasyonla seçilerek incelendi. Patoloji sonuçları göz önüne alındığında 57 (%11.4) negatif apandisit (appendix vermiformis), 88 (%17.6) komplike apandisit (perfore), 355 (%71) non-komplike apandisit (akut, flegmanöz, parazitik, gangrenöz) görüldü. İstatiksel olarak yaş, cinsiyet kriterlerine göre her gruptan tabakalandırılmış randomizasyonla 32 hasta çalışmaya dahil edildi.

Patoloji ABD'dan alınan örnekler EÜTF Moleküler Genetik bölümünde önce deparafinizasyon ve DNA izolasyonuna tabi tutuldu. Çalışma için öncelikle Sanger sekanslama yöntemi uygulandı.

DNA İzolasyonu dokudan total genomik DNA ekstraksiyonu:

Çalışmada invitrogen kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılacaktır. Bu izolasyon tekniğinin genel olarak çalışma prensibi Lizis solüsyonunu kullanarak hücre zarının parçalanması ve hücre içeriğinin açığa çıkarılması ve proteinaz K ile tüm hücresel ve nükleer histon proteinlerinin ayrılması, RNase A ile RNA'nın uzaklaştırıldıktan sonra, alkolle DNA'nın membranda presipitasyon basamağı ile yıkama membrana bağlama basamakları sonucunda alkol, protein ve membran lipid içeriklerinin ayrılmış halde ELUTION buffer ile en son uygulanan basamağında DNA'nın saf olarak eldesi sağlanır. Elüsyon tampon çözeltisi ile membrana bağlı kalan nükleik asidin %85-100'ü elüe edilir.

DNA Kantitasyonu ve DNA Kalite kontrolleri:

DNA saflığını belirlemek için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 280 nm dalga boyunda DNA konsantrasyonu, 50 ng/ µL olacak şekilde 200 µL volümde ölçülür.

2 µl (100 ng) DNA molekülü %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemini uygulanacaktır. Jeldeki DNA, baz sayısı bilinen standart DNA markırı (Hae III Fermentas) ile karşılıklı olarak yüklenip, Syngene InGeneous jel kamera sistemi kullanılarak görüntülendi. Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, PCR işlemlerinde kullanıldı..

PZR Çalışmaları:

Elde edilen DNA'dan MEFV gen bölgelerinin çoğaltılması için PZR tekniği uygulandı. Bu çalışmada EGE Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Tıp laboratuvarında uygulanan standart yöntem kullanıldı (Taq polimeraz, Reaksiyon Tamponu, Primeler (Forward/Revers), MgCl, dTPS, ddH2O, Enhancer).

PCR ürünleri kontrolü:

Primer bağlanmalarını görmek amacı ile uygulanır. Bu uygulamada %2 lik hazırlanan agaroz jel içine 3 mikrolitre orange boyası uygulandı. Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesinde bulunan jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi.

Enzim Kesimi:

PCR ürünleri exo-SAP karışımı ile enzimatik yöntemlerle saflaştırıldı . Saflaştırılmış örnekler amplifikasyon ürünlerinden zincir sonlandırma yöntemi ile (BigDye chemistry) cycle sequencing PCR yapıldı. Elde edilen apilikonlar agaroz jel elektroforezinde kontrol edildi. Bu yöntemin amacı ampikonlarda var olan fazla nükleotidlerin ve fosfat grupların uzaklaştırılmasıdır.

DNA Dizi Analizi:

Saflaştırılmış ürünler ABI3130xl otomatik DNA analiz sisteminde kapiller yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen nükleotid dizileri NCBI elektronik veri bankasından elde edilen referans dizileri ile karşılaştırılarak mutasyonlar veya polimorfizmler belirlendi. Bu amaçla enzim kesimden çıkan ürünler öncelikle bigDye boyası ile işaretlendi. İşaretlenen örneklerle ait gen dizisi ABI 3140XL Genetic Analzyer cihazında görüntülendi. Çıkan sonuçlar referans dizi ile karşılaştırılıp DNA varyantları tespit edildi. (Tablo 6)

PZR örneği BigDye İşaretleme

Bigdye Buffer

Bigdye

ddH2O

Tablo 6. DNA dizi analizindeki BigDye İşaretleme yöntemi.

Sanger sekanslama yöntemiyle çalıştığımız AAA mutasyon tarama işlemi, dokuların saklandığı formal koşulları nedeniyle çok fazla kırılma sebebiyle mümkün olmadığı

için NGS (Next Generation Sequencing) yöntemiyle DNA taramalarını tekrar çalıştırdık. Bu yöntemin avantajı, kırılmış DNA'ları onararak defalarca taramasıdır.

NGS yöntemi ile mutasyon taranması:

Library oluşturma:

- Ion Library Kitleri (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak aşağıda belirtilen yüksek performanslı kütüphaneler oluşturulur.
- o AMPLISEQ LIBRARY

Ion ampliseq panelleri kullanarak library oluşturma:

Hedef Bölgenin Çoğaltılması:

- Yüksek kalitede RNA-free DNA gerektirir. Giren DNA'nın sonuçlanan kütüphane üzerinde önemli etkisi vardır. Yüksek moleküler ağırlıkta RNA-free gDNA izole etmek için ticari olarak satılan kitler uygundur.

DNA ya da RNA izole edilip, konsantrasyonları ölçüldükten sonra library oluşturmak 10 ng olacak şekilde dilüsyon yapılır.

1- 2X primer havuzu içeren Ion Ampliseq MEFV paneli kullanılır. Her bir DNA/Primer havuz kombinasyonu için izleyen içerener 96 well PCR plate'ine eklenir. Çoklu reaksiyonlar için bir master miks (karışım) hazırlanır.

2X Primer Havuzu

İçerenler Sample ID Panel dışındaki hacim Sample ID Panel ile hacim

5X Ion AmpliSeq™ HiFi Mix (red cap)	4 µL	4 µL
2X Ion AmpliSeq™ Primer Pool	10 µL	10 µL
Optional: 20X Ion AmpliSeq™ Sample ID Panel	—	1 µL
DNA, 3000 copies (10 ng for mammalian genomes)	≤ 6µL	≤ 5µL
Nuclease-free Water	to 20 µL	to 20 µL

2. MicroAmp® adhesive film ile plate kapatılır, tamamen vortekslenir ve döndürülür. Alternatif olarak plate'i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.

3. Termal Döngü Cihazı koşullarına geçilir.

Etap	Adım	Sıcaklık	Zaman
Tutma	Enzimi aktive etmek için	99 °C	2dk
Döngü	Denatüre	99 °C	15sn
	Soğutma ve Uzatma	60 °C	4dk/
Tutma	—	10 °C	Tutma

Primer dizilerini kısmi olarak kesme:

- Bu işlem kitin içerisinden çıkan FuPa reagent ile gerçekleştirilir.
- FuPa reagent ampliconları keser ve fosforiller, onları ligase enzimi için substrat haline getirir. Bu basamak olmadan, ampliconlar adaptörlere bağlanamaz.

1. Plate üzerindeki seal dikkatlice açılır, her bir çoğaltılan örneğe 2 µL FuPa Reaktif eklenir. Toplam hacim 22 µL olmuştur.

2. MicroAmp® adhesive film ile plate kapatılır, tamamen vortekslenir ve spin attırılır. Alternatif olarak plate'i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.

3. Termal döngü cihazına yüklenir ve program çalıştırılır.

Sıcaklık	Zaman
50 °C	10dk
55 °C	10dk
60 °C	20dk
10 °C	1 saate kadar cihazda bekleyebilir

Ampliconlara adaptörleri bağlama ve saflaştırma:

- Eğer bir panel iki veya daha fazla primer havuzuna sahipse, örneğe tüm reaksiyonlar için aynı barkod kullanılır. Tek bir örnekte çoklu panel çalıştırıldığında (örn; bir DNA ve bir RNA paneli) her bir kütüphane için tek bir barkod kullanılmalıdır.
- Tek bir çip ile çoklu kütüphane çalışıyorsa, her bir kütüphane için farklı barkod kullanılmalıdır.
- Barkodlar dilue edilerek kullanılır.

Dilue edilen Barkod Adaptör Karışımı 4 Reaksiyon içindir

İçerenler	Hacim
Ion P1 Adapter	2 µL
Ion Xpress™ Barcode X*	2 µL
Nuclease-free Water	4 µL
Toplam	8 µL

	<p>*X= seçilen barkod</p> <p>Bağlanma reaksiyonu:</p> <p>1. Dikkatli bir biçimde “Plate Seal” açılır ve primerleri kısmi olarak kesilmiş örneği içeren her kuyucuk için aşağıdaki solüsyonlar eklenir. Eklemeden önce Switch Solution ve adaptörler uygun hacimde birleştirilebilir.</p> <p>İçerenler Hacim</p> <p>Switch Solution (yellow cap) 4 µL</p> <p>Dilue edilmiş barcode adapter mix 2 µL</p> <p>Toplam hacim (22µL’si FuPa reagent eklenmiş amplicon) 28 µL</p> <p>2. Her bir kuyucuğa 2 µL DNA Ligase eklenir (toplam hacim 30 µL).</p> <p>3. Plate MicroAmp® adhesive film ile kapatılır vortekslenir ve damlacıkları toplamak için spin atılır. Alternatif olarak plate’i kapatmadan önce toplam hacmin yarısı kadar hacimle pipetaj yaparak 5 kez karıştırılır.</p> <p>4. Termal döngü cihazına yüklenir ve program çalıştırılır.</p> <p>Sıcaklık Zaman</p> <p>22 °C 30dk</p> <p>72 °C 10dk</p> <p>10 °C 1saate kadar cihazda bekleyebilir)</p> <p>Amplifiye edilmemiş kütüphanenin saflaştırılması:</p> <p>Barkod adaptör bağlanan kütüphaneler AMPure® XP reaktifi ile saflaştırılır.</p> <p>Pürifikasyon basamakları:</p> <p>1. “Plate Seal” açılır ve her bir kütüphane için 45 µL (1.5X örnek hacim) Agencourt® AMPure® XP Reagent eklenir ve DNA ile beadler 5 kez pipetaj yapılır.</p> <p>2. Karışım oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilir.</p> <p>3. Plate magnetik tüplüğün üzerine alınır ve solüsyon şeffaflaşana kadar veya 2dk inkübe edilir. Dikkatli bir şekilde süpernatant pelletten ayrılır ve atılır.</p> <p>4. Taze hazırlanmış 150 µL, 70%’lik etanol plate’e eklenir, plate magnet üzerinde sağ ve sola taraflara kaydırılarak beadler yıkanır sonrasında süpernatant alınır ve atılır.</p> <p>Not: Kullanılan magnet 2 pozisyon değiştirme özelliğine sahip değilse, plate magnetten alınır (100 µL’lik pipet ile) yumuşak bir biçimde 5 kez pipetaj yapılır, sonrasında plate magnette geri alınarak solüsyon temiz olana veya 2 dk inkübe edilir.</p> <p>5. 4. aşama tekrar edilir.</p> <p>6. Tüm etanol damlacıkları toplanır ve alınır. Magnete alınan plate 5 dk oda sıcaklığında beadlerin kuruması için bekletilir. Aşırı kurutma yapılmamalıdır.</p> <p>Not: Kalan etanol damlacıkları kütüphanenin çoğalmasını inhibe edecektir. Zorunlu kalırsa, havayla kurutmadan evvel plate spin atılarak kalan etanol pelletten uzaklaştırılmalıdır.</p> <p>Qubit® 2.0 Fluorometer: Kütüphaneyi Ölçme ve Sulandırma Faktörünü Hesaplama:</p> <p>Çoğalmış her kütüphanenin 10 µL’si Qubit® 2.0 Fluorometer (Cat. no. Q32866) ve Qubit® dsDNA HS Assay Kit kullanılarak analiz edilir. Çoğalmış kütüphane genellikle 300–1500 ng/mL konsantrasyondadır. Çoğaltılmış kütüphane konsantrasyonunu belirlemek için:</p> <p>1. a) Qubit® dsDNA HS, Qubit® dsDNA HS Buffer kullanılarak 1:200 oranında çalışma sulandırması yapılır.</p> <p>2. b) 10 µL çoğaltılmış Ion AmpliSeq™ kütüphanesi 190 µL boyalı reaktif ile iyice karıştırılır ve en az 2 dk inkübe edilir.</p> <p>3. c) Qubit® 2.0 Fluorometerde konsantrasyon ölçülür.</p> <p>4. d) 20 ile çarpılarak sulandırılmamış kütüphanenin konsantrasyonu hesaplanır.</p> <p>Bu otomatik olarak “Calculate Stock Concentration” butonu kullanılarak ve örnek hacmi 10 µL olarak girilerek hesaplanır.</p> <p>Hesaplanmış kütüphane konsantrasyonuna göre ~100 pM olarak ayarlanan sulandırma belirlenir (15 ng/ml için 225bp amplicon kadar, 22 ng/ml 275bp amplicon kadar). Örneğin:</p> <p>125-175 bp uzunluğunda FFPE ile uyumlu tasarımda;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kütüphane konsantrasyonu 450 ng/mL’dir. • 450 ng/mL olan sulandırma faktörü 15 ng/mL ile bölünür, 450 ng/mL/15 ng/mL= 30 • Böylece, kütüphane’nin 10 µL’si 290 µL Low TE (1:30 dilution) ile karıştırılır ürün yaklaşık olarak 15 ng/mL (~100 pM) olur. <p>Sulandırılan kütüphane ~100 pM gibi belirlenir ve kütüphaneleri birleştirmeye veya Template hazırlamaya geçilir.</p> <p>Template hazırlama:</p> <p>Konsantrasyonları eşitlenmiş olan library’lere emülsiyon bazlı PCR işlemi uygulanır. Her bir amplicon bir bead bağlanması ve yağ küreciği içerisinde bunların clonal olarak milyonlarca</p>
--	--

kopya yapması sağlanır.

Konsantrasyonları eşitlenmiş library'ler aşağıdaki tabloya göre dilue edilir. Dilue edilen library buz üzerinde bekletilir.

	Ion AmpliSeq™ DNA Library	Ion AmpliSeq™ RNA Library	gDNA	
Fragment or Amplicon Library				Ion Total RNA-Seq Library
Library konsantrasyonu	100 pM	100 pM	100 pM	100 pM
Library hacmi	6-8 µL	6-8 µL	6-8 µL	6-8 µL
Nuclease-free Water hacmi	94-92 µL	94-92 µL	94-92 µL	94-92 µL
Amplification solüsyonuna eklenecek total dilue library hacmi			100 µL	100 µL
	100 µL			100 µL

Reaksiyona girecek amplifikasyon solüsyonu aşağıdaki tablodaki sıraya ve miktarlara göre bir tüpe eklenir. Reaktiflerin eklenmeden önce iyice karıştırılmalıdır.

Sıra	Reagent	Hacim
1	Nuclease-free Water	25 µL
2	Ion S5™ Enzyme Mix	120 µL
3	Diluted library (not stock library)	100 µL
4	Ion Sphere™ Particles	100 µL
—	Total	2400 µL

Amplifikasyon solüsyonu hazırlandıktan sonra vortekslenir ve çok kısa santrifüjlenir. 800 ul hacimler çekilerek 3 keredeki Reaksiyon filtresine aktarılır. Üzerine 200 ul Reaction Oil eklenir.

Reaksiyon Filtresi OT2 cihazına yerleştirilerek uygun protocol seçilir ve emülsiyon PCR reaksiyonu başlatılır.

Template-Positive ISP'lerin yıkanması:

1. OT2 sistemindeki çalışma bittikten sonra elde edilen ürünün süpernatanı her iki tüpte de 100 ul kalacak şekilde uzaklaştırılır. Bu ürün yeni bir 1,5 ml eppendorf'a aktarılır.
2. Recovery tüplere 100'er ul nükleaz free water koyularak pipetaj yapılır. 200ul nükleaz free water da 1,5 ml tüpün içerisine alınır ve total hacim nükleaz free water ile 1 ml'ye tamamlanır.
3. 15500 x g'de 8 dk santrifüj yapılır. Santrifüj sonrası 20 ul pellet kalacak şekilde süpernatant uzaklaştırılır.
4. ISP Resuspension solution eklenerek total hacim 100 ul'ye getirilir.

Template-Positive ISP'lerin Enrichment Sistemiyle Eldesi:

Çeşitli reaktifler hazırlanarak 8-kuyucuk plate'e eklenir ve reaksiyon başlatılır.

1. Melt-off Solüsyonunun Hazırlanması

Sıra	Bileşen	Hacim
1	Tween® Solution	280 µL
2	1 M NaOH	40 µL
—	Total	320 µL

Melt-Off Solution son konsantrasyonu 125 mM NaOH ve 0.1% Tween® 20 deterjanıdır.

2. Dynabeads® MyOne™ Streptavidin C1 Bead'lerin yıkanması ve resuspend edilmesi

- i. Dynabeads® MyOne™ Streptavidin C1 Bead'ler oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslenir ve resuspend edilir.
- ii. 100 ul bead bir tüpün içine aktarılır ve tüplük magnete yerleştirilir. Solüsyon şeffaflaşana kadar beklenir ve süpernatant uzaklaştırılır.
- iii. Bead pelletin üzerine 1000 ul Ion One Touch Wash Solution eklenir, karıştırılır, magnete alınır, şeffaflaşana kadar beklenir, süpernatant uzaklaştırılır.
- iv. Bead pelletin üzerine 130 ul MyOne™ Beads Wash Solution eklenir ve vortekslenir, bead solüsyonu elde edilir.

3. 8-kuyucuk strip plate'in yüklenmesi
8-kuyucuk strip plate aşağıdaki sıraya göre yüklenir:

Well numarası	Well'e aktarılabacak reaktif
Well 1	Template-positive ISP örneğinin tamamı [100 µL prosedür]
Well 2	130 µL MyOne™ Beads Wash Solution içerisinde çözdürülen Dynabeads® MyOne™ Streptavidin C1 Beads

Well 3 300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 4 300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 5 300 µL Ion OneTouch™ ES Wash Solution
Well 6 Empty
Well 7 300 µL taze hazırlanmış Melt-off solüsyonu
Well 8 Empty

Enrichment reaksiyonu sonrasında elde ettiğimiz ürün çipe yüklenecek örnektir. Kullanılacak hacim chip kapasitesine göre belirlenir.

Sekanslama:

Dizileme aşamasında kalıp DNA dizisindeki her bir baz eşleşmesinde şeker-fosfat bağı koparak ortama bir H⁺ iyonu salınır. Bu da pH'nın düşerek cihazda okuma sinyali almasını sağlar. Bazlar ortama tek tek salınır ve her eşleşmede bu sinyal değişimi algılanır. Eşleşmeyen baz olması durumunda hiçbir pH değişimi dolayısıyla sinyal değişimi olmaz. Hazırlanan örnekler bir çipe yüklenir ve cihaz okumaları bu çipteki ürün üzerinden yapar.

Dizileme reaksiyonu 4 aşamada gerçekleşir:

1- Çalışma Planı'nın Ion Torrent Server üzerinde hazırlanması: Plan çalışmada hangi kitler kullanıldı, hangi örneğe hangi barkod bağlandı, hangi ek programlarla analiz edilmek isteniyor gibi bilgileri içerir.

2- Ion S5 cihazının pH'sının otomatik olarak ayarlanması: Ion S5 Sequencing Kitinden hazır olarak çıkan Ion S5™ Wash Solution bottle, Ion S5™ Sequencing Reagents cartridge, Ion S5™ Cleaning Solution bottle kullanılarak cihazın pH'sının ayarlanması sağlanır. Wash 2'nin pH'nın 7.49-7.60 civarlarına ulaşması gerekir ve cihaz bunu otomatik olarak ölçerek peak görüntülerini kullanıcıya sunar.

3- Chip yüklenmesi ve dizileme: Ion S5 cihazında okunacak örneğin kapasitesine ve alınmak istenen okuma oranlarına göre seçilebilecek 3 çeşit chip vardır. 520 chip ortalama 1.2-2 milyar okuma kapasitesinde, 530 chip ortalama 6-8 milyar okuma kapasitesinde ve 540 chip 12-20 milyar okuma kapasitesindedir. Bu oranlar çalışmanın kalitesine ve çipe yüklenmesine göre değişir.

- Enrich edilen ve template positive ISP içeren örneğe 5 ul Control Ion Sphere Particle eklenir. Control Ion Sphere Particle cihazın doğru okuma yapıp yapmadığını gösteren solüsyondur. Örnek 15.500xg'de 3 dk santrifüj edilir. Geriye 10 ul kalacak şekilde süpernatant dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır.

- Pelletin üzerine 15 ul dilue edilmemiş Ion S5 Annealing Buffer eklenerek total hacim 25 ul'ye getirilir.

- 20 ul Sequencing Primer eklenir ve total hacmin 45 ul olup olmadığı kontrol edilir, eksik varsa Annealing Buffer ile hacim tamamlanır.

- 95C'de 2 dk 37C'de 2 dk inkübe edilir.

- Inkübasyon sonrası örneğe 6 ul Sequencing Polymerase ve 10 ul Ion S5™ Loading Buffer eklenerek iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilir.

- Okuma alınacak örnek çipe yüklenir. 40 ul'si Loading port'tan 20 ul'si chip loading well'den yüklenir. 10 dk chip santrifüjünde santrifüj edilerek örneğin chipin her yerine tüm kuyucuklarına yayılması sağlanır. 1.5-mL tüpte 900 uL of 50% Annealing Buffer ile 100 uL of Foaming Solution (10% Triton™ X-100) karıştırılarak köpürtülür. 100 ul bu köpükten çekilerek çipe loading porttan yüklenir ve bu işlem totalde 4 kez gerçekleştirilir.

- 100 uL 50% Annealing Buffer chip loading porttan yüklenir, exit well'den dışarı çıkan sıvı uzaklaştırılır. Bu işlem de 4 kez tekrar edilir.

- Chip cihaza yüklenerek dizileme reaksiyonu başlatılır. Çalışmanın gidişatı ve sonucu Ion Torrent Server Browser'dan online olarak takip edilebilir.

- Cihazın çalışması bittiğinde Ion Torrent Server ve online data analizi programları ile data analizleri gerçekleştirilir.

Çalışmamızın diğer kolunda ise Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik Biriminde 2016-2020 arasında AAA tanısı almış hastalar incelenerek yaşı 18 ve üzerindeki hastalar seçilerek 1000 hasta çalışmaya dahil edildi. 18 yaş ve üzerinde seçim kriteri öncelikli olarak belirlendi. 1000 hasta arasından randomizasyon yöntemiyle 100 hasta seçilmiştir. Seçilen hastalar telefon ile aranarak apendektomi öyküsü, operasyon yaşı, hatırlıyorsa patoloji tipi veya hastanede kaç gün yattığı, ameliyat sonrasında atak sıklığında değişiklik olup olmadığı, ilaç kullanım öyküsü sorgulandı. Opere edilen hastalar EÜTFH'de opera edilmediği için patoloji sonuçları öneme alınmayarak operasyon sonrası hastanede kaç gün yattıkları sorgulandı. Komplike apandisitli hastalar, hastanede post operatif en az 3 gün yatış öyküsü olacağı ön görülmesi nedeniyle, 3 gün ve üzeri yatış komplike apandisit olarak kabul edildi. Daha erken taburculuk öyküsü, kesin patoloji sonucu olmaması nedeniyle negatif apandisit veya non-komplike olarak ayırt edilemeyeceğinden, apandisitler non-komplike (non perforate ve negatif apendektomiler) ve komplike olarak iki grupta incelenerek istatistiksel analizler yapıldı.

Kliniğimizde AAA tanısı almış, elektif ve acil şartlarda opera edilen hastalar da

	<p>çalışmamızda yer almaktadır. Bu hastaların yaş, patolojik özellikleri, post operatif şikayetlerinde değişiklik durumları incelenmiştir.</p>
<p>Tezin Alana Kazandıracığı Yenilikler</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. AAA hastalarında genel topluma göre apandisit ön tanısıyla opere edilme riskinin artıp artmadığı saptanabilecektir. 2. AAA hastalarında komplike apandisit ile genel topluma göre daha sık karşılaşılabilirliği ön görülebilecektir. 3. Apandisit ön tanısıyla opere olmuş hastalarda AAA hastalığı riskinin artıp artmadığı saptanabilecektir. Bu sayede apandisitli hastalarda şüpheli durumlarda AAA hastalığı araştırılması önerilebilecektir. 4. Negatif apendektomili hastalarda zeminde AAA hastalığı riskinin arttığı saptanırsa bu hasta grubunda da AAA hastalığının genetik araştırılmasının yapılması önerilebilecektir. 5. Komplike apandisit gelişen hastalarda AAA hastalığının daha sık olduğu saptanırsa yine bu hastalarda ileri genetik araştırma önerilebilecektir. 6. AAA hastalığı nedeniyle takipli hastalarda koruyucu laparoskopik apendektomi sonrası hastalık klinik seyrine olumsuz etkisi olmadığı saptanırsa bu hasta grubunda olası apandisit kliniği ve sonuçları nedeniyle koruyucu apendektomi yapılması önerilebilecektir ya da önerilmeyecektir.
<p>Kaynaklar</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Samuels J, Aksentijevich I, Torosyan Y, Centola M, Deng Z, Sood R, et al. Familial Mediterranean Fever at the Millennium Clinical Spectrum, Ancient Mutations, and a Survey of 100 American Referrals to the National Institutes of Health. <i>Medicine</i> [Internet]. 1998 Jul;77(4):268–97. Available from: http://journals.lww.com/00005792-199807000-00005 2. Ozen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, Saatci U, Bakkaloglu A, Koroglu E, et al. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. <i>J Rheumatol</i>. 1998 Dec;25(12):2445–9. 3. James G. Neal. Dinc A, Pay S, Turan M, Simsek I. Prevalence of familial Mediterranean fever in young Turkish men [abstract]. <i>Clin Exp Rheumatol</i>. 2000; 18:292. p. 3. 4. Tunca M, Akar S, Hawkins PN, Booth SE, Şengül B, Yavuzşen TU, et al. The significance of paired MEFV mutations in individuals without symptoms of familial Mediterranean fever. Vol. 10, <i>European Journal of Human Genetics</i>. 2002. p. 786–9. 5. Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, et al. Mutation Sayı of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. Vol. 9, <i>European Journal of Human Genetics</i>. 2001. p. 553–5. 6. Brik R, Shinawi M, Kepten I, Berant M, Gershoni-Baruch R. Familial Mediterranean Fever: Clinical and Genetic Characterization in a Mixed Pediatric Population of Jewish and Arab Patients. <i>Pediatrics</i> [Internet]. 1999 May 1;103(5):e70–e70. Available from: https://publications.aap.org/pediatrics/article/103/5/e70/65400/Familial-Mediterranean-Fever-Clinical-and-Genetic 7. Majeed HA, El-Shanti H, Al-Khateeb MS, Rabaiha ZA. GenoTip/phenoTip correlations in Arab patients with familial Mediterranean fever. <i>Seminars in Arthritis and Rheumatism</i> [Internet]. 2002 Jun;31(6):371–6. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049017202000021

8. Mimouni A, Magal N, Stoffman N, Shohat T, Minasian A, Krasnov M, et al. Familial Mediterranean Fever: Effects of GenoTip and Ethnicity on Inflammatory Attacks and Amyloidosis. *Pediatrics* [Internet]. 2000 May 1;105(5):e70–e70. Available from: <https://publications.aap.org/pediatrics/article/105/5/e70/66033/Familial-Mediterranean-Fever-Effects-of-GenoTip>
9. Bernot A, Clepet C, Dasilva C, Devaud C, Petit JL, Caloustian C, et al. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nature Genetics*. 1997. p. 25–31.
10. Dewalle M, Domingo C, Rozenbaum M, Ben-Chétrit E, Cattani D, Bernot A, et al. PhenoTip-genoTip correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF). *European Journal of Human Genetics* [Internet]. 1998 Jan 12;6(1):95–7. Available from: <http://www.nature.com/articles/5200170>

Tarih:

Uzmanlık Öğrencisi

Danışman Öğretim Üyesi



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-99166796-050.06.04-331105
Konu : Onay Kararı 21-9.1T/19

Doç. Dr. Emre DİVARCI
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı

Kurulumuza başvurusunu yaptığımız " Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi " konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı ekte sunulmaktadır.

Başvuru dosyası kapsamında, araştırma giderlerinin Bilimsel Araştırma Proje Fonu (BAP) tarafından karşılanacağına ilişkin sunulmuş bulunan belge doğrultusunda, araştırmanızın desteklendiğine dair belgenin alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir

Varsa **Biyolojik Materyal Transfer Formu'nun** imzaları tamamlanarak Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir. 10.04.2016 tarih ve 29680 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğin 34. maddesinde "yurtdışına tetkik amaçlı numune gönderme yetkisi sadece ruhsatlı tıbbi laboratuvarlara aittir" ifadesi yer almakta olup bu madde Klinik Araştırmalar için de yürürlüğe girmiştir. Gönderilen insan kaynaklı biyolojik materyal klinik araştırma için gönderilse bile ruhsatlı bir tıbbi laboratuvar aracılığı ile <http://numunetransfer.saglik.gov.tr> adresindeki numune transfer yazılımı kullanılarak gönderilmesi konusuna dikkat edilmelidir.

Yazımızın bir örneğinin diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Güzide AKSU
Kurul Başkanı

Ek:İlgili Etik Kurul Kararı (1 Adet aslı gibidir örneği elden gönderilecektir)



EGE ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanağı 2.Kat. Erzincan Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel : 0 232 390 2334 e-mail: eostaes@egmail.com
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

Microssatfı Tanıma Programı ile Teletanımları gerçekleştirilmiştir.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Anemisi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açılardan Ayrıntılı Değerlendirilmesi.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVAN/ADI/SOYADI	Doçent Doktor Emre DEVARCI
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Araştırma Görevlisi Tavid Nahiyyev Prof. Doktor Afif Berdeli
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	-
	BİLGİLENDİRME FORMU	-
	VERİ İZLEME FORMU/ ANKET	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>
DİĞER	<input type="checkbox"/>	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 21-9-11/19	Tarih: 23.09.2021
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekliliği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasını etik açıdan uygun bulunduğuna fapanlyba kablları etik kurul üyelerince oy birliği ile karar verilmiştir.	

EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESAS	Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yürürlüğü, İyileştirme ve Klinik Uygulanabilirlik Kurumu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Güzide AKSU					
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Ünvanı	Bilgi (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Güzide AKSU Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Doç. Dr. Toriça ARSIT (Başkan Yardımcısı)	Antrenörlik Eğitimi - Hareket ve Antrenman Bilimleri	Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi - Hareket ve Antrenman Bilimleri AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Dr. Öğr. Üyesi Aysun EKŞİOĞLU Üye (Raportör)	Ebelik A.D.	Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Anabilim Dalı	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Zeliha KERRY Üye	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ONLINE KATILMADI (***)
Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Üye	Halk Sağlığı A.D.	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ünitesi olan Kurul üyesi sorumlu araştırmacı olduğunda, Klinik Araştırmaları Hakkında Yürürlükte bulunan Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ünitesi Sorumlu Değerlendiricisi olan Kurul üyelerinden birisi olarak değerlendirilmelidir. Etik Kurulumuzda Halk Sağlığı Bilim Dalı üyesi olan araştırmacıların etik kurul üyesi olarak görev yapmaları ve diğer üyelerin görev alanlarına göre değerlendirilmeleri için Kurul üyelerimizden birisi olarak görev yapmaları gerekmektedir.

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/ Adı/Soyadı
Prof. Dr. Güzide AKSU

İMZA

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Etik Kurul Başkanı

Tarih: 23.09.2021

Sayfa

23.09.2021

1/1



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIPBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzincan Ankaava Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 2134 e-mail: etik@ege.edu.tr
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN ADI: Çocuklarda Apandisit ve Akut Aklentiz Ateş Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açılardan Ayrıntılı Değerlendirilmesi

KARAR BELGELERİ		Karar No: 21-9-11/19				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyesi	Gözetimlik Dahil	Kurumu	Onayı	İlgili (*)	Kabul (**)	İmza
Prof. Dr. Ceyda KABARDOĞLU Üye	Klinik Biyokimya	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Klinik Biyokimya B.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Çağdas EKER Üye	Halk Sağlığı ve Hastalıklar	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ve Hastalıklar A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. H. Duyu TÜRKÖĞLU Üye	Periodontoloji	Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ONLINE KATILMADI (***)
Prof. Dr. Meltem SEZİŞ DEMİRCİ Üye	H Hastalıklar	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıklar A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ONLINE KATILMADI (****)
Prof. Dr. Şafak DAĞHAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği A.D.	Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Doc. Dr. Ahmet ÖZGÜR YENİEL Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	ONLINE KATILMADI (**)
Doc. Dr. Banu Sarsık KUMBARACI *	Patoloji	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Doc. Dr. Mustafa Nuri DENİZ	Anestezi	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI
Doc. Dr. Tahir ATIK Üye	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıklar	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıklar A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	ONLINE KATILDI

- * Anestezi Uzmanı
** Toplantıda Katılmadı
*** Yok İmza
****Koruyucu Hekimlik İmza

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kurul Başkanı ve Etik Kurul Başkanı olarak görev yapmaktayım. Bu araştırmanın bilimsel değeri yüksek, hastalara fayda sağlayacağı ve toplum yararına olacağına inanıyorum. Araştırmanın bilimsel değeri yüksek, hastalara fayda sağlayacağı ve toplum yararına olacağına inanıyorum. Araştırmanın bilimsel değeri yüksek, hastalara fayda sağlayacağı ve toplum yararına olacağına inanıyorum.

Etik Kurul Başkanı
Ünvanı / Adı/Soyadı
Prof. Dr. Çağdas EKER

İMZA
Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Bilimsel Değerlendirme Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Mustafa Nuri DENİZ

Olgu Rapor Formu

Hasta No.		
Cinsiyet	Kadın <input type="radio"/>	Erkek <input type="radio"/>
Doğum tarihi		
Apendisit nedeniyle ameliyat yaşı		
Apendisit patoloji sonucu		
Bilinen AAA(Ailesel Akdeniz Ateşi) hastalığı	Var <input type="radio"/>	Yok <input type="radio"/>
Bilinen ek hastalıklar		
FMF mutasyon sonucu (Varsa belirtiniz)	Var <input type="radio"/> (.....)	Yok <input type="radio"/>

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
Apandisit nedeniyle ameliyat olmuş hastalar (1. Kol) Ebeveyn
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!! Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.
Bu çalışmanın adı ne? Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi
Bu çalışmanın amacı ne? Çocuklarda apandisit ve ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalığı arasındaki ilişkinin klinik ve genetik açıdan ayrıntılı değerlendirilerek hastaların tanı ve tedavi sürecine olumlu etkiler yapmak.
Size nasıl bir uygulama yapılacak? Apandisit ameliyatında çocuğunuzdan alınmış olan örnekler üzerinde ileri araştırmalar yapılarak ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalığı mutasyon analizi yapılacaktır.
Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir? Yoktur
Ne kadar zamanınızı alacak? Zamanınız alınmayacaktır.
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır? 500
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması), Sizden herhangi bir materyal alınmayacaktır, daha önce ameliyatla alınmış patoloji materyalinin bir parçası sizin rızanızla Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalından alınarak, Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında analiz edilecektir.
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir? Beklenti veya sorumluluk bulunmamaktadır.
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak? Eğer patoloji örneğinizin genetik analizinde FMF mutasyonu saptanırsa tarafınıza bildirilecektir, böylelikle zeminde gizli kalmış AAA hastalığı tanısı konulabilecektir.

Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?		
Gönüllünün çalışmaya katılmak istememesi		
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?		
Zarar vermez		
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?		
Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayanmaktadır. Eğer istemiyorsanız çalışmaya katılmayabilirsiniz		
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?		
Kandan çalışılabilir ancak hasta canı yanabildiği ve çocukların hastane fobisini arttırmamak için kanla araştırma işlemi yapılmayacaktır		
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?		
Hayır, size bu çalışmaya katıldığınız için herhangi bir ücret ödenmeyecektir		
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?		
Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.		
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.		
Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri		
1- Adı, soyadı: Doç.Dr.Emre Divarçı 2- Ulaşılabilir telefon numarası: 3- Görev yeri: EÜTF Çocuk Cerrahisi ABD		
Çalışmaya Katılma Onayı:		
<p>Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.</p> <p>Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.</p>		
GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		

ADRESİ			
TELEFONU			
TARİH			
Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI	
ADI & SOYADI			
ADRESİ			
TELEFONU			
TARİH			
Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının			
ADI & SOYADI			
ADRESİ			
TELEFONU			
TARİH			

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
Apandisit nedeniyle ameliyat olmuş hastalar (1. Kol) 3-9 yaş
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!! Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.
Bu çalışmanın adı ne? Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi
Bu çalışmanın amacı ne? Karın ağrının nedeniyle daha önce alınmış olan bağırsak parçasını başka bir hastalık yapması açısından araştıracağız
Size nasıl bir uygulama yapılacak? Sana hiçbir uygulama yapılmayacak. Ancak daha önceden aldığımız barsak parçasını özel laboratuvarda makinede kontrol edeceğiz
Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir? Yoktur
Ne kadar zamanınızı alacak? Zamanı almayacağız
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır? 500
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması), Sizden herhangi bir materyal alınmayacaktır, daha önce ameliyatla alınmış barsak parçası anne ya da babanın izniyle Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalından alınarak, Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında çalışılacaktır
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir? Beklenti veya sorumluluk bulunmamaktadır.
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak? İlerde akdeniz ateşi hastalığı dediğimiz hastalığının olmaması için test edeceğiz
Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?

Eğer istemezsen hiçbir şey yapmayacağız		
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?		
Zarar vermez		
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?		
Eğer akdeniz hastalığı dediğimiz ateş ağrı yapan hastalığın varsa geç tanı koymuş oluruz		
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?		
Kan alabiliriz ancak bu canını yakar		
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?		
Hayır		
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?		
hayır		
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.		
Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri		
1- Adı, soyadı: Doç.Dr.Emre Divarlı 2- Ulaşılabilir telefon numarası: 0532 441 11 11 3- Görev yeri: EÜTF Çocuk Cerrahisi ABD		
Çalışmaya Katılma Onayı:		
<p>Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilirim biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.</p> <p>Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.</p>		
GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		
Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
Apandisit nedeniyle ameliyat olmuş hastalar (1. Kol) 9-12 yaş
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!! Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.
Bu çalışmanın adı ne? Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi
Bu çalışmanın amacı ne? Senin ameliyat olmana neden olan apandisit dediğimiz hastalıkla ailesel akdeniz ateşi dediğimiz ateş karın ağrısı yapan hastalık açısından araştıracağız
Size nasıl bir uygulama yapılacak? Sana hiçbir uygulama yapılmayacak. Ancak daha önceden ameliyat ettiğimiz appendiks parçasını özel laboratuvarında makinede kontrol edeceğiz
Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir? Yoktur
Ne kadar zamanınızı alacak? Zamanı almayacağız
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır? 500
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması), Senden herhangi bir materyal alınmayacaktır, daha önce ameliyatla alınmış barsak parçası anne ya da babanın izniyle Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalından alınarak, Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında çalışılacaktır
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir? Beklenti veya sorumluluk bulunmamaktadır.
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak? İlerde akdeniz ateşi hastalığı dediğimiz hastalığının olmaması için test edeceğiz
Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?

Eğer istemezsen hiçbir şey yapmayacağız		
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?		
Zarar vermez		
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?		
Eğer akdeniz hastalığı dediğimiz ateş ağrı yapan hastalığın varsa geç tanı koymuş oluruz		
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?		
Kan alabiliriz ancak bu canını yakar		
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?		
Hayır		
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?		
hayır		
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.		
Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri		
1- Adı, soyadı: Doç.Dr.Emre Divarlı		
2- Ulaşılabilir telefon numarası:		
3- Görev yeri: EÜTF Çocuk Cerrahisi ABD		
Çalışmaya Katılma Onayı:		
<p>Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilirim biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.</p> <p>Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.</p>		
GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasiinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		
Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI	Javid Naghiyev	
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH	02/08/2021	
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU		
Apandisit nedeniyle ameliyat olmuş hastalar (1. Kol) 12-18 yaş		
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!		
<p>Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.</p>		
Bu çalışmanın adı ne?		
Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi		
Bu çalışmanın amacı ne?		
<p>Çocuklarda apandisit ve ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalığı arasındaki ilişkinin klinik ve genetik açıdan ayrıntılı değerlendirilerek hastaların tanı ve tedavi sürecine olumlu etkiler yapmak.</p>		
Size nasıl bir uygulama yapılacak?		
<p>Apandisit ameliyatında çocuğunuzdan alınmış olan örnekler üzerinde ileri araştırmalar yapılarak ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalığı mutasyon analizi yapılacaktır.</p>		

Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir?
Yoktur
Ne kadar zamanınızı alacak?
Zamanınız alınmayacaktır.
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır?
500
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması), Sizden herhangi bir materyal alınmayacaktır, daha önce ameliyatla alınmış patoloji materyalinin bir parçası sizin rızanızla Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalından alınarak, Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Moleküler Genetik laboratuvarında analiz edilecektir.
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir?
Beklenti veya sorumluluk bulunmamaktadır.
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak?
Eğer patoloji örneğinizin genetik analizinde FMF mutasyonu saptanırsa tarafınıza bildirilecektir, böylelikle zeminde gizli kalmış AAA hastalığı tanısı konulabilecektir.
Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?
Gönüllünün çalışmaya katılmak istememesi
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?
Zarar vermez
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?
Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayanmaktadır. Eğer istemiyorsanız çalışmaya katılmayabilirsiniz
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?
Kandan çalışılabilir ancak hasta canı yanabildiği ve çocukların hastane fobisini arttırmamak için kanla araştırma işlemi yapılmayacaktır
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?
Hayır, size bu çalışmaya katıldığınız için herhangi bir ücret ödenmeyecektir
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?
Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri

- 1- Adı, soyadı: Doç.Dr.Emre Divarcı
- 2- Ulaşılabilir telefon numarası:
- 3- Görev yeri: EÜTF Çocuk Cerrahisi ABD

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

--

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
2.Kol Ailesel Akdeniz Ateşi tanısı almış hastalar için
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!
Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.
Bu çalışmanın adı ne?
Çocuklarda Apandisit ve Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalığı Arasındaki İlişkinin Klinik ve Genetik Açından Ayrıntılı Değerlendirilmesi
Bu çalışmanın amacı ne?
FMF tanısı almış hastalarda apandisit insidensini saptamak
Size nasıl bir uygulama yapılacak?
Herhangi bir uygulama yapılmayacaktır
Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir?
yoktur
Ne kadar zamanınızı alacak?
Telefonla görüşmeler sağlanacak ve 1 ile 3 dk arası sürecektir
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır?
1000
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması),
Sizden herhangi bir materyal alınmayacaktır
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir?
Beklenti veya sorumluluk bulunmamaktadır
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak?
Size hiçbir yarar sağlamayacak.
Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir?

Gönüllünün çalışmaya katılmak istememesi		
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi?		
Zarar vermez		
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?		
Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayanmaktadır. Eğer istemiyorsanız çalışmaya katılmayabilirsiniz		
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir?		
Yoktur.		
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi?		
Hayır, size bu çalışmaya katıldığınız için herhangi bir ücret ödenmeyecektir		
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim?		
Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.		
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.		
Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri		
1- Adı, soyadı: Doç.Dr.Emre Divarçı 2- Ulaşılabilir telefon numarası: 3- Görev yeri: EÜTF Çocuk Cerrahisi ABD		
Çalışmaya Katılma Onayı:		
<p>Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.</p> <p>Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.</p>		
GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		

TARİH			
Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasiinin			
İMZASI			
ADI & SOYADI			
ADRESİ			
TELEFONU			
TARİH			
Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının			
İMZASI			
ADI & SOYADI			
ADRESİ			
TELEFONU			
TARİH			