

AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ (FMF) DÜŞÜNÜLEN OLGULARDA MEFV GEN MUTASYONLARI SIKLIĞININ İNCELENMESİ

Evaluating the Frequency of MEFV Gene in a Group of Patients with a Pre-diagnosis of Familial Mediterranean Fever

Gönül ERDEN¹, Ceylan BAL¹, Oya GÜNGÖR TORUN¹, Nihal UĞUZ¹, M.Metin YILDIRIMKAYA¹

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, III Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA

İletişim:
Gönül ERDEN
Ankara Numune E. A. Hast.
Cebeci Merkez Laboratuvarı
Mamak Cad. No: 3
06340 Cebeci/ANKARA
Tel : 0312 362 14 87
Faks : 0312 362 39 72
e-posta: drgonulerden@gmail.com

ÖZET

Amaç: Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) MEFV genindeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif bir hastalıktır. Bu çalışmada bir grup Türk'te, MEFV geninde sıklıkla rastlanıldığı bildirilen E148Q, P396S, F479L, M680I (G/C), M680I (G/A), I692DEL, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H mutasyonlarının frekansı ve yüzdeleri incelenmiştir.

Yöntem: FMF ön tanısı almış toplam 98 hastada MEFV geninde 12 mutasyon araştırıldı. Hastaların yaş ortalaması \pm SD, 30 ± 12 yıl idi. MEFV genindeki mutasyonlar, ticari kit kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ters-hibridizasyona dayanan strip-assay ile saptandı.

Bulgular: Çalışılan toplam 98 hastadan 67'sinde MEFV gen mutasyonları bulunmuştur (% 68,36). Allel frekansları yüzdeleri açısından incelendiğinde; M694V (%46,26), E148Q (%16,41), V726A (%13,43), M680I (G/C) (%5,97), R761H (%2,98) bulunmuştur. P396S (%1,49) F479L (%1,49), A744S (%0,74), allellerinin oldukça düşük frekanslarda olduğu belirlenmiştir. M680I (G/A), I692DEL, M694I ve K695R mutasyonlarına ise rastlanmamıştır.

Sonuç: Türk Toplumunda yapılan diğer çalışmalarda görüldüğü gibi, hastalarımızın büyük çoğunluğunda M694V mutasyonuna rastlanmıştır. Çalışmamızda en sık rastlanan ilk dört mutasyon türü yapılmış diğer çalışmalarla uyumludur ancak sıklığı farklı bulunmuştur. Türk Toplumunda daha önce bildirilmiş mutasyon türlerinde 12 mutasyonun tümünün sıklığını bildiren çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu açıdan sonuçlarımızın ileride yapılacak fenotip-genotip korelasyon çalışmalarına yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), MEFV geni, mutasyon

ABSTRACT

Objective: Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive disease caused by mutations in the FMF gene (MEFV). In this study, we evaluated the frequency and percentage of most common known twelve mutations (E148Q, P396S, F479L, M680I (G/C), M680I (G/A), I692DEL, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H) of MEFV gene in a group of Turkish individuals.

Methods: A commercial kit assay for the identification of MEFV gene mutations based on PCR and reverse-hybridization was used to investigate 12 mutations of the MEFV gene in 98 patients (mean age: 30 ± 12 years).

Results: Sixty-seven patients (68.6%) were found to have one of the MEFV mutations: M694V (46.26%), E148Q (16.41%), V726A (13.43%), M680I (G/C) (5.97%) and R761H (2.98%). Very low allele frequencies were observed in P396S (1.49%), F479L (1.49%), A744S (0.74%) type mutations, while the M680I(G/A), I692DEL, M694I and K695R type mutations were not detected.

Conclusion: The M694V mutation is the most frequent one among our study group similar to published estimates from Turkey. In addition, the frequency of the most common four mutation types, which were detected in this study were similar but with different percentages when compared to the previous estimates. There are not many published estimates on the 12 types of MEFV gene mutations of Turkish patients, therefore our results may be beneficial for phenotype-genotype correlation studies.

Key Words: Familial Mediterranean Fever, MEFV gene, mutation, PCR

GİRİŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) tekrarlayan ataklarla görülen ateş, peritonit, plörit, artrit veya erizipel şeklinde cilt lezyonları ile karakterize otozomal resesif geçiş gösteren kalıtsal bir hastalıktır. Hastalık tipik olarak ataklarla seyrederek ve ataklar arasında hastaların hiçbir şikayeti yoktur. Ataklar, çoğunlukla bir ila dört gün arasında sürmekte olup, atak esnasında lökositoz, yüksek sedimantasyon hızı, artmış fibrinojen ve C reaktif gibi akut faz reaktanları belirgindir. Hastalığın nadir görülen formlarında rekürren orşit ve menenjit bildirilmiştir (1, 2). Vücutta amiloid birikimi önemli bir komplikasyondur. Amiloidozisin en fazla görüldüğü organ böbreklerdir. Olgularda karşılaşılan ölümler böbrek yetmezliğine bağlı olarak gelişmektedir (3).

Bu hastalık yaygın olarak ülkemizi de içine alan kuşakta gözlenir. Türklerde, Ermenilerde, Arap ve Yahudilerde görülme sıklığı diğer toplumlara oranla daha fazladır. FMF'in ülkemizde görülme sıklığı 1/1000 olarak bilinmektedir. Taşıyıcılık oranı ise değişik araştırmalarda %15-34 olarak rapor edilmiştir. Bir başka deyişle ülkemizde her beş kişiden biri taşıyıcı konumundadır (4).

MEFV geni 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olmuştur ve 781 amino asitli bir proteini (pirin) kodlamaktadır. Pirin proteininin FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nötrofil aktivitesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol aldığı belirtilmektedir (5, 6). MEFV geni 10 ekson içeren büyük bir genidir. Bu gene ait literatürde yaklaşık 20 farklı mutasyon tanımlandığı halde gene ait mutasyonların özellikle 10. eksonda bulunan küçük bir alana lokalize olduğu bilinmektedir (7).

Çalışmamızda FMF ön tanısı ile refere edilmiş 98 olguda MEFV geni, en sık rastlandığı belirtilen 12 mutasyon bakımından incelenmiştir. Söz konusu mutasyonlar: E148Q ekson 2 de; P396S ekson 3 de; F479L ekson 5 de ve M680I (G/C), M680I (G/A), I692DEL (2076-2078), M694V, M694I, K695R, V726A, A744S ve R761H ekson 10 da bulunmaktadır (8, 9).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ekim 2006 - Haziran 2007 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvurup FMF ön tanısı almış toplam 98 hasta (45 erkek, 53 kadın) alınmıştır. Çalışmada, laboratuvarımıza farklı birimlerden (romatoloji polikliniği, nefroloji polikliniği ve diğer poliklinikler) mutasyon taraması için rutin olarak başvurmuş hastaların sonuçları değerlendirilmiştir.

Mutasyon taraması için hastaların periferal venöz tam kan örnekleri kullanılmıştır. MEFV geni ile ilişkili 12 mutasyonun taranması için ters hibridizasyon yöntemini temel alan FMF strip assay kiti (ViennaLab Labordiagnostica) kullanılmıştır.

Bu yöntem toplam dört aşamadan oluşmaktadır: (a) DNA kan örnekleri standart yöntemle izole edilmiştir. (b) biyotinlenmiş primerler kullanılarak yapılan PCR amplifikasyondan sonra (c) 8 tane wild-type ve 12 tane mutant spesifik immobilize oligonükleotid problemlerini taşıyan bir test şeridinde amplifikasyon ürünlerinin hibridizasyonu sağlanmıştır. Son aşamada (d) biyotinle işaretlenen dizilerin streptavidin-alkaline fosfataz ve renk substratları kullanılarak belirlenmesinin ardından sonuçlar analiz edilmiştir.

BULGULAR

FMF ön tanısı ile refere edilen 98 hastanın 67'sinde mutasyon belirlenmiştir (% 68,36). Tablo 1 ve 2'de tüm hastaların mutasyon taraması sonuçları ve sayıları allel düzeyinde belirtilmiştir. MEFV gen mutasyonları açısından 26 hasta homozigot, 24 hasta bileşik heterozigot olarak belirlenirken, 17 hastanın test edilen mutasyonlardan yalnızca birini taşıdığı görülmüştür. Bunlar arasında homozigot mutasyonlar; M694V/M694V (n=19), E148Q/E148Q (n=4), V726A/V726A (n=2), M680I (G/C)/M680I (G/C) (n=1) olarak bulunmuştur. Heterozigot mutasyonlar arasında M694V/wt (n=5), V726A/wt (n=4), E148Q/wt (n=3), M680I(G/C)/wt (n=2), R761H/wt (n=1), P396S/wt (n=1) ve F479L/wt (n=1) belirlenmiştir. İki

Tablo 1. FMF ön tanılı hastaların MEFV genotipi

Genotipler		
Allel 1	Allel 2	Hasta Sayısı
E148Q	E148Q	4
E148Q	M694V	10
E148Q	P396S	1
E148Q	wt	3
P396S	wt	1
F479L	M694V	1
F479L	wt	1
M680I (G/C)	M680I (G/C)	1
M680I (G/C)	A744S	1
M680I (G/C)	V726A	1
M680I (G/C)	R761H	1
M680I (G/C)	M694V	3
M680I (G/C)	wt	2
M694V	M694V	19
M694V	V726A	4
M694V	R761H	1
M694V	wt	5
V726A	V726A	2
V726A	R761H	1
V726A	wt	4
R761H	wt	1
wt	wt	31
Toplam		98

wt, normal allel, yabani tip

mutasyonu birlikte taşıyanlar (bileşik heterozigotluk) içerisinde M694V/E148Q (n=10), M694V/V726A (n=4), M680I(G/C)/M694V (n=3), M680I (G/C)/A744S (n=1), M680I (G/C)/V726A (n=1), R761H/V726A (n=1), M694V/R761H (n=1), M680I (G/C)/R761H (n=1), P396S/E148Q (n=1) ve F479L/ M694V=1 belirlenmiştir. M680I (G/A), I692DEL, M694I ve K695R mutasyonlarına ise rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

Klinik tanısı zor olan FMF hastalığının moleküler genetiğinin anlaşılması yönünde son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. MEFV geni 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olmuştur. FMF olgularının etyolojisinde önemli rolü olan MEFV gen

mutasyonlarının belirlenmesi hastalığın tanısına yardımcı olmada oldukça önemlidir. MEFV genindeki mutasyonların sayısı ve çeşidi toplumlar arasında değişiklik göstermektedir (4, 6, 10). Çalışmamıza FMF ön tanısı almış toplam 98 hasta dahil edilmiş ve bu hastalarda sıklıkla rastlanıldığı bildirilen 12 mutasyon incelenmiştir. Elde edilen verilere göre hastaların %68.36'sında mutasyona rastlanmıştır.

Mutasyonlu olgular içinde homozigotluk oranı % 38,81 olarak tespit edilmiştir. Homozigot mutasyonlar sıklık açısından sırasıyla M694V, E148Q, V726A, M680I (G/C) şeklinde bulunmuştur. Çeşitli mutasyonları homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan bireyler dikkate alındığında %62,7 oranında M694V mutasyonu taşıyan bireylere rastlanılmıştır. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda bu oran Türkler için % 41-45 oranında saptanırken Musevilerde %65 ve Araplarda ise %20 olarak rapor edilmiştir (11).

MEFV geninde bulunan tüm mutasyonlar arasında sırası ile M694V, M680I, V726A ve E148Q'nun en yaygın mutasyonlar içinde olduğu rapor edilmiştir (12). Çalışmamızda FMF mutasyonlarını homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan olgularda (N=67) allellerin frekansı göz önüne alındığında M694V mutasyonu %46,26 ile en fazla rastlanırken bunu sırası ile E148Q (% 16,41), V726A (% 13,439), M680I (G/C) (% 5,97) iz-

Tablo 2. MEFV mutasyonlarını homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan olgularda (N=67) allellerin frekansı ve yüzdeleri

Mutasyon	Allel sayısı	%
M694V	62	46,26
E148Q	22	16,41
V726A	18	13,43
M680I (G/C)	8	5,97
R761H	4	2,98
P396S	2	1,49
F479L	2	1,49
A744S	1	0,74
wt	17	12,68
Toplam	134	100

wt, yabani tip, normal allel

lemektedir (Tablo 2). Bu sonuç yukarıdaki verileri mutasyon türü bakımından desteklerken sıklık sırası açısından desteklememektedir.

Türk FMF çalışma grubu tarafından sonuçları bildirilmiş, Türkiye'deki çeşitli merkezlerden toplanmış hasta bilgileri ile yapılmış bir çalışma mevcuttur (10). Bu çalışma şu ana kadar Türkiye'de bu konuda yapılmış en geniş araştırmadır. Kesin FMF tanısı almış hastaların verileri incelenmiştir. Mutasyon analizi yapılmış 1090 hastada en çok görülen mutasyon tipi M694V (%51,4; 1121/2180) olarak bildirilmiştir. Bunu sırasıyla M680I (% 14,4; 313/2180) ve V726A (%8,6; 188/2180) izlemiştir (10). Bu çalışma, bizim çalışmamızdan, kesin tanı almış bireyleri incelemiş olması ve 12 değil üç tip mutasyonu araştırmış olması ile farklılık göstermektedir.

E148Q mutasyonunun ülkemiz için sıklığı % 13 olarak rapor edilmesine rağmen bizim çalışmamızda bu oran % 16,41 olarak bulunmuştur. Ayrıca birçok çalışmada sıklık açısından dördüncü sırada görülen bu mutasyonun bizim çalışmamızda ikinci sırada görülmesi, E148Q mutasyonunun daha hafif bir klinik tabloya sahip olması nedeniyle önemlidir (13).

V726A mutasyonuna ülkemiz FMF hastaları arasında %9 sıklıkta rastlanıldığı bildirilmiştir (4,14). Çalışmamızda bu mutasyon %13,43 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda M680I (G/C) mutasyonunun mutant bireyler içindeki yüzdesi %9,2 olarak ifade edilmiş bizim çalışmamızda bu oran %13,5 olarak bulunmuştur (15). Ayrıca bu mutasyon türü-

nün sıklık açısından dördüncü sırada yer alması önemlidir.

Çalışma grubumuzda R761H (% 2,98), P396S (% 1,49), F479L (% 1,49), A744S (% 0,74) mutasyonlarına düşük frekanslarda rastlanırken M680I (G/A), I692DEL, M694I ve K695R mutasyonlarına ise rastlanmamıştır.

Hasta grubu açısından bizim çalışmamıza en yakın olan iki çalışmanın en sık görülen dört mutasyon türü yönünden değerlendirilmesi Tablo 3'te bulunmaktadır (16, 17). Bu iki çalışmada M680I (G/C) ikinci sırada yer alırken, bizim çalışmamızda dördüncü sırada yer almıştır. Bu iki çalışmada E148Q üçüncü sırada yer alırken, bizim çalışmamızda ikinci sırada yer almıştır.

FMF'te genetik testlerin önemi büyüktür; klinik sendrom öncesi tanı imkanı sağlar. Risk taşıyan kardeşlerin belirlenmesinde faydalıdır. Komplike-kasyonların önlenmesi açısından, kolşisin tedavisine zamanında başlanmasında yardımcıdır.

Türk Toplumunda daha önce bildirilmiş mutasyon türlerinde 12 mutasyonun tümünün sıklığını bildiren çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu açıdan sonuçlarımızın ileride yapılacak fenotip-genotip korelasyon çalışmalarına yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

Fenotip genotip korelasyon çalışmaları açısından hastaların takibi önem taşımaktadır. Hastaların klinikleri ve prognozları hakkında daha fazla veriye ulaşılmış yeni çalışmaların yapılması konunun netleştirilmesi açısından faydalı olacaktır.

Tablo 3. Yayınlanmış benzer iki çalışma ile mevcut çalışmadaki bireylerin mutant allel taşıma yüzdeleri açısından değerlendirilmesi.

	M694V (%)	E148Q (%)	V726A (%)	M680I(G/C)(%)
Yeşilada ve ark.(16)	31,7	9,6	3,7	12,9
Yalçınkaya ve ark.(17)	51,8	7,5	7,5	13,2
Mevcut Çalışma	46,2	16,4	13,4	5,9

Not: Taşıma yüzdeleri mutant allel sayıları baz alınarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Eshel G, Zemer D, Bar-Yochai A. Acute orchitis in familial Mediterranean fever. *Ann Intern Med.* 1988; 109:164-165.
2. Barakat, MH, Mustafa HT, Shakir RA. Mollaret's meningitis. A variant of recurrent hereditary polyserositis, both provoked by metaraminol. *Arc Neurol* 1998; 45: 926-7.
3. Berhmann RE, Vaughan VC. *Nelson Textbook of Pediatrics (Twelfth ed)* WB. Saunders Company, Philadelphia, 1983, p 1223.
4. Bakkaloğlu A. Familial Mediterranean Fever. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18:853-9.
5. Konstantopoulus K, Kanta A, Deltas C et al. Familial Mediterranean fever associated pyrin mutations in Greece. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62:479-81.
6. Güran Ş, Gök F, Erdem H ve ark. Ailesel Akdeniz ateşi "Familial Mediterranean fever-FMF" düşünülen olgularda MEFV gen mutasyonları. *Moleküler Tanı Dergisi.* 2003;1:42-4.
7. Mor A, Gal R, Livneh A. Abdominal and digestive system associations of Familial Mediterranean fever. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98:2594-604.
8. Oberkanins C, Weinhausel A, Kriegshauser G, Moritz A, Kury F, Hass OA, Genetic testing for Familial Mediterranean fever in Austria by means of reverse-hybridization test strips. *Clin Chem.* 2003; 49:1948-50.
9. Tchernitchko D, Legendre M, Delahaye A et al. Clinical evaluation of a reverse hybridization assay for the molecular detection of twelve MEFV gene mutations. *Clin Chem.* 2003; 49:1942-5.
10. Turkish FMF study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey, Results of a Nationwide Multicenter Study. *Medicine.* 2005; 84:1-11.
11. Yalçinkaya F, Tekin M, Çakar N, Akar N, Tümer N. Familial Mediterranean fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients. *Q J Med.* 2000; 93:681-4.
12. Olgun A, Akman S, Kurt S, Tuzun A, Kutluay T. MEFV mutations in Familial Mediterranean fever: associated of M694V homozygosity with arthritis. *Rheumatol Int.* 2005;25:255-9.
13. Medlej-Hashim M, Loiselet J, Lefrank G, Megarbane A. Familial Mediterranean fever (FMF): from diagnosis to treatment *Sante.* 2004; 14:261-6.
14. Yalçinkaya F, Topaloğlu R, Yılmaz E, Emre S, Erken E. On behalf of the Turkish FMF Study Group. Distribution of MEFV mutations and phenotype genotype analysis in Turkish patients with FMF: a nationwide study (abstract). *Clin Exp Rheumatol.* 2002; 20 (Suppl 26): 90.
15. Caraneuve C, Havenasyon Z, Geneieve D et al. Familial Mediterranean fever among patient from Karabakh and the diagnostic value of MEFV gene analysis in all classically affected populations. *Arthritis Rheum.* 2003;48: 2324-31.
16. Yeşilada E, Savacı S, Yüksel Ş, Gülbay G, Otlı G, Kaygusuzoğlu E. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları. *İnönü Üniversitesi TF Dergisi* 2005;12(4):235-38.
17. Yalçinkaya E, Güran S, Nas BG, Dursun A, Imirzalıoğlu N. The Importance of Results of MEFV Gene Analysis in Cases Prediagnosed as 'Familial Mediterranean Fever'. *Erciyes Medical J* 2006; 28(1):19-24.