

Van ve Çevresindeki Çocuklarda Ailesel Akdeniz Ateşi Gen Mutasyonlarının Sıklığı

Incidance of Familial Mediterranean Fever (FMF) Gene Mutations in Children in Van Region

Ruşen Köçeroğlu* Mehmet Ramazan Şekeroğlu** Ragıp Balahoroğlu**
Erdem Çokluk** Haluk Dülger***

* Eğitim Araştırma Hastanesi, Biyokimya, VAN, Türkiye

** Yüzüncü Yıl Üniversitesi tıp Fakültesi, Biyokimya, VAN, Türkiye

*** Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya, KONYA, Türkiye

Başvuru Tarihi: 12 Kasım 2014

Kabul Tarihi: 01 Aralık 2014

ÖZET

Amaç: Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) otozomal resesif bir hastalık olup, periyodik karın ağrısı, ateş ve eklem ağrısına yol açan seröz membranların tekrarlayan inflamatuvar ataklarıyla karakterizedir. MEFV genindeki mutasyonların hastalıktan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada Van ve çevresinde AAA tanısı ile takip edilen çocukların, MEFV geninin 12 mutasyonu açısından taranarak tekli veya birleşik mutasyonların oranlarının saptanması ve mutant bireyler içindeki homozigot ve heterozigot oranının tespiti amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Bu amaçla 5-15 yaşlarında 157 hasta çalışmaya alındı. Hastalar klinik bulgularına göre aktif (n=81) ve pasif (n=76) grup olarak ikiye ayrıldı. Hastalarda revers hibridizasyon analizi ile MEFV gen mutasyonları incelendi.

Bulgular: Hastaların %42,7'sinde heterozigot, %11,5'inde birleşik heterozigot ve %12,7'sinde homozigot olmak üzere toplam %66,87'sinde mutasyon saptandı. E148Q heterozigot (%22,92), M694V homozigot (%10,82) ve M694V heterozigot (%8,28) mutasyonları en sık izlenen mutasyonlardı. En sık tespit edilen alleller ise M694V (%40,0), E148Q (%32,41) ve V726A (%11,72) idi.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları AAA'lı hastalarda MEFV gen mutasyonundaki heterojeniteyi desteklemiş ve hastalarımızın geniş bir mutasyon yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Ailesel Akdeniz Ateşi; MEFV gen mutasyonları; E148Q alleli; M694V alleli

ABSTRACT

Background: Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive disease and it is characterized by recurrent inflammatory attacks of the serous membranes which cause periodic abdominal pain, fever and joint pain. The mutations in the gene of MEFV have been determined to be responsible for the disease. The aim of this study was to screen MEFV gene for 12 mutations in children diagnosed with FMF and to detect alleles which were most frequently observed.

Materials and methods: The study included 157 patients aged 5-15 years. The patients were divided into two groups as active (n = 81) and passive (n = 76) according to their clinical findings. Mutations of MEFV gene in patients were examined by analysis of reverse hybridization.

Results: 66,87% of the total patients had mutation, of which 42,7% had heterozygous, 11,5% compound heterozygous and 12,7% homozygous mutations. The most frequently observed mutations were E148Q heterozygous (22,92%), M694V homozygous (10,82%) and M694V heterozygous (8,28%). The alleles which were detected most were M694V (40,0%), E148Q (32,41%) and V726A (11,72%).

Conclusion: The results of this study have supported the heterogeneity of the mutation of MEFV gene in patients with FMF and have shown that our patients have a wide range of mutations.

Keywords: Familial Mediterranean fever; the mutations of MEFV gene; E148Q allele; M694V allele.

GİRİŞ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA, Familial Mediterranean Fever: FMF); tekrarlayıcı, otozomal resesif geçişli, seröz membranların inflamasyonu sonucu ortaya çıkan karın, göğüs ve eklem ağrılarında ateşin eşlik ettiği bir hastalıktır. AAA Doğu Akdeniz kökenli topluluklarda özellikle Yahudiler, Türkler, Ermeniler ve Araplar'da sık görülür. Hastalığın prevalansı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5 gibi yüksek değerlerdedir (1).

AAA'ya yol açan gen ilk kez 1997 yılında iki ayrı grup tarafından klonlanmıştır. Uluslararası FMF Konsorsiyum'u ve Fransız FMF Konsorsiyum'u 16. kromozomun kısa kolu 16p13.3'de 781 aminoasitten oluşan pirin/marenostin adı verilen proteini kodlayan genin AAA hastalığı ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. AAA gelişiminden sorumlu tutulan bu gen **ME**diterranean **Fe**Ver (MEFV) geni olarak adlandırılmıştır. Her iki araştırma grubu M694V, M694I, M680I ve V726A mutasyonlarının hastaların %85'inde mevcut olduğunu göstermişlerdir (2,3).

Türkiye'de çeşitli bölgelerde AAA mutasyon tiplendirmesi ve taşıyıcılık sıklığı üzerine çalışmalar yapılmış ve mutasyon sıklıkları bakımından bazı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada Van ve çevresinde AAA tanısı ile takip edilen çocukların, MEFV geninin 12 mutasyonu açısından taranarak tekli veya birleşik mutasyonların oranlarının saptanması ve mutant bireyler içindeki homozigot ve heterozigot oranının tespiti amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Livneh ve ark.(4)'ünün yayınladığı kriterlere göre tanısı konulmuş 5-15 yaşları arasında 157 hasta (81 erkek, 76 kız) çalışma grubuna alındı.

Hastalar, klinik şikayeti olanlar atak grubu, olmayanlar ise remisyon grubu olarak 2 gruba ayrıldı. Atak grubu 81 (41 erkek, 40 kız), remisyon grubu 76 (40 erkek, 36 kız) hastadan oluştu. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı çocuk (19 erkek, 11 kız) çalışmaya alındı. Çalışma yerel etik kurulu tarafından uygun görülmüş olup, Helsinki Deklerasyonu prensiplerine uygun olarak gerçekleştirilmiş ve hastalardan "Bilgilendirilmiş olur" alınmıştır.

Hastalardan alınan K2-EDTA'lı kandaki lökositlerden DNA izole edildi. PCR ile MEFV geninin ilgili bölgelerinin multipleks amplifikasyonundan sonra strip testle revers hibridizasyon analiz tekniği kullanılarak 12 MEFV gen mutasyonu (E148Q, P369S, F479L, M680I G-C, M680I G-A, I692del, M694V, M694I, K965R, V726A, A744S, R761H) açısından tarandı (FMF Strip Assay, VienaLab Labordiagnostika GmbH).

BULGULAR

Yaş ortalamaları atak grubunda $8,98 \pm 2,51$ (5-15), remisyon grubunda $8,82 \pm 2,90$ (5-15), kontrol grubunda $8,7 \pm 2,93$ (5-14) idi ve her 3 grupta yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). Erkek/kız oranları atak grubunda 1,02 (41/40), remisyon grubunda 1,11 (40/36) ve kontrol grubunda 1,72 (19/11) idi.

Hastaların 105'inde (%66,87) taranan mutasyonlardan bir veya daha fazlası saptanırken, 52 hastada (%33,13) herhangi bir mutasyon tespit edilmedi. 67 hastada heterozigot (%42,7), 18 hastada compound (birleşik) heterozigot (%11,5) ve 20 hastada homozigot mutasyonlar (%12,7) saptandı. Saptanan mutasyonların %63,8'ini heterozigot, %19,1'ini homozigot ve %17,1'ini compound heterozigot mutasyonlar oluşturdu.

E148Q heterozigot (36 hastada), M694V heterozigot (13 hastada) ve M694V homo- zigot (17 hastada) mutasyonları en sık gözle- nen mutasyonlardı. Hastaların genotip dağı- lımları Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmamız sonucunda 145 allelde mutant gen tespit edildi. En sık gözlenen alleller M694V (58 allel), E148Q (47 allel), ve V726A (17 allel) idi. Tespit edilen mutant allellerin dağılımı Tablo 2'de sunulmuştur.

TARTIŞMA

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA), özellikle Türk, Arap, Ermeni ve Yahudi toplumlarında yaygın olarak görülen ve otozomal resesif olarak aktarılan otoinflamatuar bir hastalıktır (4). Geniş katımlı Türk AAA çalışma grubu kayıtları erkek: kız oranının 1.2:1 olduğunu göstermiştir (1). Çalışmamızda erkek: kız oranları atak grubunda 1.02:1, remisyon grubunda 1.11:1 ve toplam hastalar içinde 1.06:1 şeklinde olup önceki verilerle uyumludur.

Tablo I. Hastaların genotip dağılımları
Table I. Patient genotype distribution

| Mutasyon | Genotip | Hasta sayısı | % |
|-------------------------------|-----------------------|--------------|-------|
| Heterozigot | E148Q / - | 36 | 22.92 |
| | M694V / - | 13 | 8.28 |
| | V726A / - | 7 | 4.45 |
| | P369S / - | 4 | 2.54 |
| | R761H / - | 4 | 2.54 |
| | M694I / - | 1 | 0.63 |
| | A744S / - | 1 | 0.63 |
| | K695R / - | 1 | 0.63 |
| Compound Heterozigot | M694V / V726A | 4 | 2.54 |
| | E148Q / M694V | 3 | 1.91 |
| | M680I / V726A | 2 | 1.27 |
| | M694V / R761H | 2 | 1.27 |
| | E148Q / R761H | 1 | 0.63 |
| | E148Q / P369S | 1 | 0.63 |
| | F479L / V726A | 1 | 0.63 |
| | P369S / M694I | 1 | 0.63 |
| | P369S / V726A | 1 | 0.63 |
| | E148Q / M694V / V726A | 2 | 1.27 |
| Homozigot | M694V / M694V | 17 | 10.82 |
| | E148Q / E148Q | 2 | 1.27 |
| | M694I / M694I | 1 | 0.63 |
| Mutasyon saptanan hastalar | | 105 | 66.87 |
| Mutasyon saptanmayan hastalar | | 52 | 33.13 |
| Toplam hasta sayısı | | 157 | 100 |

Tablo II. Tespit edilen mutant allellerin dağılımı
Table II. Distribution of determined mutant alleles

| Mutasyon | Allel sayısı | % |
|----------|--------------|-------|
| M694V | 58 | 40.00 |
| E148Q | 47 | 32.41 |
| V726A | 17 | 11.72 |
| P369S | 7 | 4.82 |
| R761H | 7 | 4.82 |
| M694I | 4 | 2.75 |
| M680I | 2 | 1.37 |
| F479L | 1 | 0.68 |
| A744S | 1 | 0.68 |
| K695R | 1 | 0.68 |
| Toplam | 145 | 100 |

AAA, MEFV gen mutasyonlarıyla yakından ilişkilidir. Moleküler alandaki ilerlemeler AAA'nın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Türkiye'de şimdiye kadar MEFV gen mutasyonlarının dağılımını araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Biz de AAA hastalarında MEFV geninin 12 mutasyonunun dağılımını inceledik. Türkiye'deki çalışmaların bazılarında en sık izlenen 4 mutasyon Tablo 3'te gösterilmiştir.

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalara göre MEFV genindeki mutasyonlardan en yaygın 4 allel M694V, E148Q, M680I ve V726A'dır (Tablo 3). Çalışmamızda diğer çalışmalarda olduğu gibi en yaygın allel, %40 allel sıklığına sahip olan M694V idi (Tablo 3). Türk AAA çalışma grubu verilerine göre de M694V mutasyonu %51.4 allel frekansı ile en sık görülen mutasyondur (1). Çalışmamızda ikinci en yaygın mutasyon E148Q (%32.4) idi. Bunu V726A takip etti. Önceki çalışmaların bir kısmında E148Q, ikinci en sık allel olsa da, frekansı bizim çalışmamızda daha yüksek bulundu (Tablo 3). Bazı çalışmalarda E148Q mutasyonu en düşük penetranslı mutasyon olarak bulunmuştur. Hatta bir mutasyon değil de bir polimorfizm olabileceği öne sürülmüştür (12,13). E148Q, Iraklı hastalarda %29 prevalansla en yaygın alleldir. Lübnanlılarda ise en yaygın ikinci alleldir (14). Al-Alami ve ark. (15); Mısırlılar, Suriyeliler, Ürdünlüler, Iraklılar ve Suudilerden oluşan ve 939 sağlıklı kişiyi içeren bir grupta taşıyıcılık oranlarını göstermişler ve en yüksek taşıyıcılığı E148Q için bulmuşlardır. Bunu V726A ve M694V takip etmiştir. V726A sıklığı dünyada yaklaşık %17-20, Türkiye'de ise %3-14 arasındadır (16). Türk AAA çalışma grubunun verilerine göre V726A, %8.6 oranında izlenmiştir (1). Çalışmamızda V726A allel frekansı %11.7 olarak bulundu. Bu oran önceki çalışmalarla örtüşmektedir. V726A, Arap ve Ashkenazi olmayan Yahudilerde ikinci en yaygın mutasyondur (12). V726A önceki çalışmalarda da çoğunlukla 3. sıklıkta izlenen bir mutasyondur. Toutiou (12) tarafından bildirilen raporda M680I mutasyonu Türk ve Ermenilerde 2. en yaygın mutasyondur. M680I, Türk AAA çalışma grubu verilerine göre %14.4 oranla 2. sıradadır (1). Türkiye'de yapılan çalışmalarda da daha çok 2. sıklıkta

izlenen bir mutasyondur. Diyarbakır yöresinde yapılan bir çalışmada E148Q %30.8, M694V %18.3, P369S %10.6 ve V726A %8.6 oranlarında bulunmuştur. M680I mutasyonu Türkiye'de önceden yapılan çalışmalardan farklı olarak %6.7 oranla 5. sırada yer almıştır (17). Bizim çalışmamızda da bu mutasyonların sıralaması değişmekle birlikte, en sık izlenen ilk 4 mutasyon bu çalışmayla uyumludur. Çalışmamızda saptadığımız M680I mutasyonu %1.37 oranıyla 7. sırada yer almıştır. R761H mutasyonunun özellikle Türk AAA hastalarında yaygın olduğu rapor edilmiştir (18). R761H mutasyonu çalışmamızda %4.8 allel sıklığıyla 5. sırada yer almıştır.

Aynı etnik gruplarda fakat farklı bölgelerde taşıyıcılık üzerine yapılan çalışmaların farklı sonuçları bize, bölgesel çalışmaların etnik köken temelli çalışmalar kadar önemli olduğunu göstermiştir. Papadopoulos ve ark. (19)'nın 2010 yılında yayınlanan çalışması Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen birçok Türk AAA hastasında MEFV gen mutasyonlarının toplum genetiğini açıklamaktadır. Araştırmacılar yedi çalışma grubunu inceleme altına almışlar ve çalışma sonuçlarının her birini tek tek bir diğeri ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar bu yedi bölgede yapılan çalışmaların birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı olduğunu ortaya koymuştur. Papadopoulos ve ark.'nın bu bulgusu Yahudiler gibi genetik olarak farklı alt grupları sergileyen diğer toplumların genetik dağılımıyla uyum içindedir (12).

Hastalarımızda etnik köken belirtilmemiş olsa da Anadolu'da pek çok etnik grup vardır. Bu yüzden etnik kökene dayalı mutasyon analiz çalışmalarına ihtiyaç vardır. Türk toplumunun tamamında AAA taşıyıcılık oranı yüksektir ve Anadolu'da AAA gen mutasyon sıklığı daha da yüksek seviyede olabilir. Ulusal çalışmalar AAA'nın demografik, genetik ve klinik bulguları arasındaki ilişkiyi belirlemede ve elde edilecek bu bulgular da AAA hastalarının klinik yönetiminin daha iyi yapılmasına yardımcı olabilir. Nitekim MEFV geni ve onun çeşitli mutasyonlarının tanımlanmasının AAA hastaları ve ailelerine genetik ve tıbbi danışmanlık için bir temel sağladığı bildirilmiştir (20).

Tablo III. Türkiye’de çeşitli çalışmalarda MEFV mutasyonları sıklıkları (% allel)
Table III. The frequency of MEFV mutations in various studies in Turkey (allel %).

| Çalışma | M694V | V726A | M680I | E148Q |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| İnal ve ark.(5) | 70.0 | 11.4 | 10.2 | 5.4 |
| Özalkaya ve ark. (6) | 46.8 | 9.7 | 15.6 | 12.8 |
| Düşünsel ve ark. (7) | 72.0 | 5.7 | 14.2 | 4.0 |
| Ertekin ve ark. (8) | 66.6 | 7.9 | 15.8 | 4.7 |
| Özdemir ve ark. (9) | 43.1 | 11.3 | 15.0 | 20.1 |
| Akın ve ark. (10) | 47.6 | 12.9 | 12.5 | 16.7 |
| Üreten ve ark. (11) | 39.1 | 8.0 | 9.4 | 6.1 |
| Bizim çalışmamız | 40.0 | 11.7 | 1.3 | 32.4 |

Çalışmamız MEFV gen mutasyonlarındaki heterojeniteyi desteklemiştir. Hastalarımız geniş bir mutasyon yelpazesine sahiptir. Bu durum uzun sürelerdir Doğu Anadolu’da yaşayan etnik grupların kültürleri arası etkileşimini yansıtabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, hastaların %42,7’sinde heterozigot, %11,5’inde birleşik heterozigot ve %12,7’sinde homozigot olmak üzere toplam %66,8’inde mutasyon saptandı. E148Q heterozigot (%22,9), M694V homozigot (%10,8) ve M694V heterozigot (%8,2) mutasyonları en sık izlenen mutasyonlardı. En sık tespit edilen alleller ise M694V (%40,0), E148Q (%32,4) ve V726A (%11,7) idi. Bu sonuçlar MEFV gen mutasyonlarındaki heterojeniteyi desteklemiş ve hastalarımızın geniş bir mutasyon yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir.

Etik Konular

Van Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı’nın 08.12.2009 tarih ve 06 nolu kararı ile çalışmamıza onay alınmıştır.

Bilgi ve Teşekkür

Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (BAPB) tarafından 2010-TF-U079 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Makale Uzmanlık tezi çalışmasından hazırlanmış olup bazı verileri AACC (American Association for Clinical Chemistry) 24-28 Temmuz 2011 Kongresinde Atlanta, Georgia-USA’da poster olarak sunulmuştur.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

1. Turkish FMF Study Group, Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, *et al.* Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84(1): 1-11.
2. The International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell* 1997; 90(4):797-807.
3. The French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997; 17: 25-31.
4. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, *et al.* Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1879-85.
5. Inal A, Yılmaz M, Guneser Kendirli S, Ufuk Altintas D, Bingol Karakoc G. The clinical and genetical features of 124 children with Familial Mediterranean fever: experience of a single tertiary center. *Rheumatol Int* 2009; 29: 1279-85.
6. Özalkaya E, Mir S, Sözeri B, Berdeli A., Mutlubaş F, *et al.* Familial Mediterranean fever gene mutation frequencies and genotype-phenotype correlations in the Aegean region of Turkey. *Rheumatol Int* 2011; 31(6): 779-84.
7. Dusunsel R, Dursun I, Gunduz Z, Poyrazoğlu MH, Gurgoze MK, *et al.* Genotype-phenotype correlation in children with familial Mediterranean fever in a Turkish population. *Pediatr Int* 2008; 50(2): 208-12.
8. Ertekin V, Selimoğlu MA, Pirim I. Familial Mediterranean fever in a childhood population in eastern Turkey. *Pediatr Int* 2005; 47(6): 640-4.
9. Ozdemir O, Sezgin I, Kurtulgan HK, Candan F, Koksall B, *et al.* Prevalence of known mutations in the MEFV gene in a population screening with high rate of carriers. *Mol Biol Rep* 2011; 38(5): 3195-200.
10. Akin H, Onay H, Turker E, Cogulu O, Ozkinay F. MEFV mutations in patients with Familial Mediterranean Fever from the Aegean region of Turkey. *Mol Biol Rep* 2010; 37(1): 93-8.
11. Ureten K, Gönülalan G, Akbal E, Güneş F, Akyürek O, *et al.* Demographic, clinical and mutational characteristics of Turkish familial Mediterranean fever patients: results of a single center in Central Anatolia. *Rheumatol Int* 2010; 30(7): 911-5.
12. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 473-83.

13. Ozen S. Familial Mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *Eur J Pediatr* 2003; 162(7-8): 449-54.
14. Sabbagh AS, Ghasham M, Abdel Khalek R, Greije L, Shammaa DM, *et al.* MEFV gene mutations spectrum among Lebanese patients referred for Familial Mediterranean Fever work-up: experience of a major tertiary care center. *Mol Biol Rep* 2008; 35(3): 447-51.
15. Al-Alami JR, Tayeh MK, Najib DA, Abu-Rubaiha ZA, Majeed HA, *et al.* Familial Mediterranean fever mutation frequencies and carrier rates among a mixed Arabic population. *Saudi Med J* 2003; 24(10): 1055-9.
16. Dode C, Pecheux C, Cazeneuve C, Cattan D, Dervichian M, *et al.* Mutations in the MEFV gene in a large series of patients with a clinical diagnosis of familial Mediterranean fever. *Am J Med Genet* 2000; 92: 241-6.
17. Evliyaoğlu O, Bilici S, Yolbas I, Kelekçi S, Sen V. Diyarbakır yöresi Alevi Akdeniz Atesli çocuklarda MEFV gen mutasyon sıklıkları. *Dicle Tıp Dergisi* 2009; 36(2): 80-4.
18. Demirkaya E, Tunca Y, Gok F, Ozen S, Gul D. A very frequent mutation and remarkable association of R761H with M694V mutations in Turkish familial Mediterranean fever patients. *Clin Rheumatol* 2008; 27(6): 729-32.
19. Papadopoulos V, Mitroulis I, Giaglis S. MEFV heterogeneity in Turkish Familial Mediterranean Fever patients. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 355-8.
20. Brik R, Shinavi M, Kepten I, Berant M, Gershoni R. Familial Mediterranean fever: Clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics* 1999; 103:1-4.

Yazışma adresi:

Erdem Çokluk
Yüzüncü Yıl Üniversitesi tıp Fakültesi,
Biyokimya, VAN, Türkiye
0432 216 47 10
e-posta: erdemcokluk205@hotmail.com
