

# İzmir’de MEFV Gen Mutasyonlarının Sıklığının Araştırılması

## *The Investigation of the Prevalence of MEFV Gene Mutations in Izmir*

Giray Bozkaya\* Murat Örmən\* Sibel Bilgili\* Murat Aksit\*\*

\* Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

\*\* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 04 Nisan 2016

**Kabul Tarihi:** 11 Temmuz 2016

### ÖZET

**Amaç:** Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) otozomal resesif geçişli, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve serozit atakları ile kendini gösteren bir hastalıktır. FMF’in sebebi, Mediterranean Fever (MEFV) geninde meydana gelen mutasyonlardır. Çalışmamızın amacı, laboratuvarımızda yapılan FMF dizi analiz sonuçlarını değerlendirerek İzmir’deki FMF mutasyon sıklığı hakkında fikir sahibi olmamıza yardımcı olacak bir çalışma yapmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2013 ve Ağustos 2015 tarihleri arasında FMF ön tanısı alan 126 kişide MEFV gen mutasyonları retrospektif olarak araştırıldı. MEFV genindeki mutasyonları belirlemek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve 21 mutasyon araştırılabilen pyrosekans yöntemi ile DNA dizi analizi yapıldı.

**Bulgular:** Sekans analizi ile 126 kişinin 66’sında MEFV gen mutasyonları saptandı (% 52,4). Mutasyon görülen 18 hastanın homozigot, 20 hastanın birleşik heterozigot ve 28 hastanın heterozigot olduğu belirlendi. En sık görülen mutasyonların; homozigot olanlarda M694V, birleşik heterozigotlarda M694V/M680I, heterozigot olanlarda ise E148Q olduğu görüldü. Allel frekansları yüzdeleri açısından incelendiğinde; M694V (%37,4), E148Q (%11,45), M680I (%11,45), V726A (%6,11), P369S (%5,35), R761H (%3,05), R744S (%2,29), K695R (%1,52), wt (%21,38) bulundu.

**Sonuç:** Birçok çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da M694V mutasyonu ilk sırada yer almaktaydı. En sık rastlanan ilk dört mutasyon türü yapılmış diğer çalışmalarla uyumlu iken; sıklık sırası açısından farklılık gösterdi. Çalışmamızdaki M694V toplam allel sayısı oranı diğer bazı çalışmalardan daha düşük bulundu (%37,4). Düşük M694V oranı, hasta sayımızın az olmasına bağlı olabileceği gibi, yöntem farklılığından veya araştırılan mutasyon sayısından da kaynaklanabilir. Ülkemizde 21 mutasyon araştırılan az sayıda çalışma mevcuttur. Organ nakli bölümünce istenen mutasyon analizlerinde M694V mutasyonunun çoğunluğu oluşturduğu tespit edildi. Mutasyon tipinin hastalık şiddeti ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Bu sebeple FMF hastalarında mutasyon analizinin mümkün olduğu kadar erken gerçekleştirilerek olası komplikasyonların önüne geçilebileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF); Polimeraz Zincir reaksiyonu; Dizi analizi

## ABSTRACT

**Objective:** Familial Mediterranean fever (FMF) is an autosomal recessive hereditary disease characterised by recurrent attacks of serositis and fever accompanied by pain in the abdomen. FMF is caused by mutations in Mediterranean Fever (MEFV) gene. The aim of this study was to evaluate the results of FMF genetic mutation analysis made in our laboratory and to get some information about the frequency of FMF genetic mutations in Izmir.

**Materials and Methods:** MEFV gene mutations were retrospectively investigated in 126 patients which were prediagnosed as FMF between January-August 2015. Polymerase Chain Reaction and DNA pyrosequencing methods were used to search 21 different mutations in MEFV gene.

**Results:** MEFV gene mutations were found in 66 of 126 patients with sequence analysis (52.4%). There were 18 homozygous, 20 compound heterozygous and 28 heterozygous patients. The most common mutations were; M694V in homozygotes, M694V/M680I in compound heterozygotes and E148Q in heterozygotes. Allele frequencies were as follows: M694V (37.4%), E148Q (11.45%), M680I (11.45%), V726A (6.11%), P369S (5.35%), R761H (3.05%), R744S (2.29%), K695R (1.52%), wt (21.38%).

**Conclusion:** In our study M694V was found to be the most common mutation as in many studies results. The most common four mutation types that we found were in accordance with the other studies, but their frequency rate varies. In this study, total number of M694V alleles was lower than the other studies (37.4%). This may be due to small number of the study group, difference of methods or it can be caused by the number of mutations investigated. In our country there are few studies examining 21 mutations. It was determined that most of the mutations from the department of organ transplantation was M694V. It was thought that the mutation type is associated with the severity of the disease. Earlier mutation analysis in patients who are prediagnosed as FMF, will prevent future possible complications. In this respect, we believe that our results may provide guidance to future studies.

**Key words:** Familial Mediterranean Fever (FMF); Polymerase Chain Reaction; Sequence analysis

## GİRİŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) otozomal resesif geçiş gösteren bir hastalık olup, tekrarlayan ateş, karın ağrısı ve serozit atakları ile kendini gösterir. Dünyada 100.000'den fazla kişiyi etkileyen hastalık genellikle Akdeniz havzasında Türkler, Araplar, Yahudiler ve Ermeniler'de görülmektedir (1). FMF Mediterranean Fever (MEFV) geninde meydana gelen mutasyonlar sebebiyle ortaya çıkar (2,3). MEFV geni 16. Kromozomun kısa kolunda yer almakta olup (16p13.3), üzerinde 70'den fazla mutasyon tanımlanmıştır (4). Tespit edilen mutasyonların çoğu 10. ekzon üzerinde bulunurken bunu sırasıyla 2, 3 ve 5. ekzonlar takip eder (4). FMF her iki cinsi eşit oranda tutar ancak bazı çalışmalarda erkeklerde daha fazla görüldüğü de bildirilmiştir (1,5).

Türkiye'de FMF prevalansının 1:400-1:1000 arasında değiştiği bildirilmiştir (6,7). FMF'in Türkiye'deki taşıyıcılık oranı ise 1:5'dir (1,2). Türkiye FMF çalışma grubunun yaptığı 1090 FMF hastasını kapsayan bir araştırmada Türklerde M694V'nin en sık rastlanan mutas-

yon olduğu, bunu sırasıyla; M680I ve V726A mutasyonlarının takip ettiği bildirilmiştir (5). Akdeniz havzasında görülen mutasyonların %74'ünü M694V, V726A, M680I ve E148Q oluşturmaktadır (4).

MEFV geni 781 amino asitten oluşan "pyrin" adlı proteini kodlar (8,9). Normalde antiinflamatuar etki gösteren pyrinin FMF hastalığında enflamasyona yol açtığı ileri sürülmektedir.

Çoğu hastada 20 yaşından önce başlayan belirtiler atak döneminde kişiyi yatağa bağlasa da, ataklar arasında tamamiyle asemptomatik olabilir. Akut batına benzeyen karın ağrısı en sık rastlanan belirtilerindedir (1). Eklem belirtileri diğer sık görülen bulgularından olup, alt ekstremitelerdeki büyük eklemleri tutar. Genellikle tek eklem tutuluşu kızarmış, şiş eklemlerle kendini gösterir. Karın ağrısının yanında ateş, artrit, plevit ve erizipel benzeri bulgulara da rastlanır (5). FMF'in en yıkıcı komplikasyonlarından biri amiloidoz'dur. Genellikle böbrekleri etkileyerek kronik böbrek yetmezliğine neden olan

amiloidoz görülme sıklığı Türklerde % 12.9 olarak bulunmuştur.

Hastalardaki mutasyonun tipi hastalığın şiddeti ile ilişkili bulunmuştur. Kodon 694 mutasyonu olanlarda hastalığın daha erken yaşlarda görüldüğü, atakların daha sık olduğu, tedavide daha yüksek doz kolşisine gerek duyulduğu ve tedavi edilemeyenlerde amiloidoz görülme riskinin yüksek olduğu bildirilmektedir (10-12). Buna karşın E148Q mutasyonu olanlardaki hastalık bulguları daha hafiftir.

Hastaların M694V homozigot mutasyona sahip olmalarının amiloidoz gelişme riskini artırdığı öne sürülse de, M694V homozigotluğu ile amiloidoz gelişmesi arasında ilişki bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (10-14).

Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiş olsa da, FMF, komplikasyonları dolaşısıyla önemli bir hastalıktır. Laboratuvar testlerinde meydana gelen gelişmeler sebebiyle FMF mutasyonları artık daha kolay tespit edilebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, laboratuvarımızda yapılan FMF Dizi Analizi ölçümleri değerlendirmek, mutasyon çeşitliliğini belirleyerek bunların dağılımını incelemektir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemiz polikliniklerinden Ocak 2013 ve Ağustos 2015 tarihleri arasındaki dönemde FMF ön tanısı ile dizi analizi istenen 126 kişinin bilgileri Moleküler Tanı Laboratuvarı arşivinden retrospektif olarak temin edildi. Analiz öncesi hastaların onamları alındı. Hastaların K3EDTA'lı 4 mL'lik tüplere alınan kan örneklerinden otomatik olarak DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA örnekleri ile FMF 2, 3, 5 ve 10 ekzonlarında bulunan E148Q, P369S, H478Y, F479L, S675N, G678E, M680L, M680I, T681I, I692del, M694V, M694L, M694I, K695R, K695M, R717S, I720M, V722M, V726A, A744S, R761H mutasyonları için polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan ilgili DNA bölgelerinden Pyrosequencing yöntemi ile DNA dizi analizi yapıldı.

## BULGULAR

FMF Dizi analizi yapılması istenen 126 kişinin 66'sında (%52.38) çeşitli mutasyonlar saptandı. Bunlardan en sık görülen mutasyonun M694V olduğu belirlendi. Bu mutasyonun görülme sıklığı 35/66 (%53) idi. M694V mutasyonu görülen hastaların cinsiyet dağılımı Tablo 1'de gösterildi. Mutasyon analizi isteyen bölümler arasında 37 kişi ile dahiliye, 22 kişi ile organ nakli ilk 2 sırayı oluşturdu.

**Tablo 1.** Saptanan mutasyonların cinsiyet dağılımı

Mutasyon tipi	Homozigot K/E	Heterozigot (K/E)
M694V	8 K/6 E	10 K/11 E
M680I	-	8 K/7 E
E148Q	1 K/1 E	7 K/4 E
V726A	-	5 K/3 E
P369S	1 E	4 K/2 E
R761H	-	3 K/1 E
R744S	-	1 K/2 E
K695R	1 K	-

MEFV gen mutasyonu görülen 18 hastanın homozigot, 20 hastanın birleşik heterozigot ve 28 hastanın heterozigot olduğu belirlendi. Homozigot mutasyonlarda M694V ilk sırayı alırken (n=14), birleşik heterozigot mutasyonlarda M694V/M680I en fazla görülen mutasyonlardı (n=7). Heterozigot olan hastalarda ise en sık E148Q mutasyonu saptandı (n=8).

Homozigot M694V mutasyonlarının çoğu (n=9, %60) organ naklinden istenen hastalarda saptandı. M694V mutasyonu birleşik heterozigot mutasyonlar açısından da ilk sırayı aldı (n=17). Görülen 21 M694V birleşik heterozigot ve heterozigot mutasyonlarının çoğunluğunun dahiliye tarafından istendiği belirlendi (%61.9).

M694V mutasyonundan sonra allel sayılarına göre görülme sıklığı açısından M680I ve E148Q mutasyonları ikinci sırayı paylaştı (%11.45). V726A, P369S, R761H, R744S ve K695R mutasyonları sırasıyla saptanan diğer mutasyonlardı. Mutasyonlara ait MEFV genotipleri Tablo 2'de, allel sayıları veriler Tablo 3'de gösterildi.

**Tablo 2.** FMF tanılı hastaların MEFV genotipleri

Genotip	Hasta Sayısı
<b>M694V / M694V</b>	<b>14</b>
M694V / M680I	7
M694V / V726A	6
M694V / E148Q	2
M694V / P369S	1
M694V / R744S	1
M694V / wt	4
<b>E148Q / E148Q</b>	<b>2</b>
E148Q / P369S	1
E148Q / wt	8
<b>P369S / P369S</b>	<b>1</b>
P369S / wt	4
<b>K695R / K695R</b>	<b>1</b>
M680I / R761H	1
M680I / V726A	1
M680I / wt	6
R761H / wt	3
V726A / wt	1
R744S / wt	2
<b>Toplam</b>	<b>66</b>

**Tablo 3.** MEFV mutasyonlarını taşıyan olguların allel frekans ve yüzdeleri

Mutasyon	Allel sayısı	%
M694V	49	37,40
E148Q	15	11,45
M680I	15	11,45
V726A	8	6,11
P369S	7	5,35
R761H	4	3,05
R744S	3	2,29
K695R	2	1,52
wt	28	21,38
<b>Toplam</b>	<b>131</b>	<b>100</b>

## TARTIŞMA

Teşhisi tipik klinik bulgular, aile öyküsü ve kolşisine verilen yanıt gibi kriterlere bağlı olan FMF hastalığında mutasyon analizi tanıyı doğrulamak açısından büyük önem taşımaktadır (1). Laboratuvar tekniklerindeki gelişmeler geçmiş yıllarda uzun ve zahmetli mutasyon analiz aşamalarını oldukça kolaylaştırmıştır. Bu sayede artık birçok laboratuvar da FMF mutasyonlarının tespiti yapılabilmektedir. Bizim çalışmamızda da geçen 2 yıllık süreçte laboratuvarımızda dizi analizi yöntemi ile yapılan MEFV mutasyon tetkikleri

incelenerek değerlendirilmiştir. Araştırılan mutasyon sayısı yapılan diğer çalışmalardan genellikle daha fazladır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda genellikle reverse hibridizasyon tekniğinin uygulandığı Strip assayler kullanılmıştır. Bu testlerde araştırılan mutasyon sayısı 12'dir. Bizim çalışmamızda kullandığımız pyrosekans yönteminde toplam 21 mutasyonun varlığı araştırılmıştır. FMF Strip testlerde en sık görülen 12 mutasyonun araştırılmış olması, nadir de olsa bulunması muhtemel diğer mutasyonların tespitini olanaksız kılmaktadır. Bu sebeple, tespit edilen mutasyonlar arasında görülme yüzdeleri açısından fark ortaya çıkabilir.

Elde edilen bulgulara göre, M694V mutasyonu birçok çalışmada olduğu gibi en sık rastlanan mutasyon olmuştur (15-18). Bu mutasyon homozigot hasta sayısı açısından en çok görülen mutasyon olmasının yanı sıra (n=14), heterozigot mutasyonlar açısından da ilk sırada yer almaktaydı. MEFV mutasyonu görülen 66 hastanın 21'inde heterozigot M684V mutasyonu bulunmaktaydı (%31.8). Çalışmamızdaki M694V toplam allel sayısı oranı diğer bazı çalışmalardan daha düşüktür (%37.4) (19,20). Düşük M694V oranı, çalışmamızdaki hasta sayımızın azlığından kaynaklanabileceği gibi, yukarıda bahsedilen yöntem farklılığından veya araştırılan mutasyon sayısından da kaynaklanabilir. Yeşilada ve arkadaşlarının çalışmasındaki oran bizim çalışmamızdaki orandan daha düşüktür (21). Fakat onların çalışmasında elde edilen mutasyon oranlarının hepsinin diğer çalışmalara göre daha düşük olduğu göze çarpmaktadır.

İlk sıradaki M694V mutasyonundan sonra farklı oranlarda E148Q, M680I ve V726A mutasyonları bildirilmiştir. Akdeniz havzasında görülen MEFV gen mutasyonlarının %74'ünü oluşturan bu 4 mutasyon bizim çalışmamızda da allel frekansının %66.4'ünü oluşturmaktadır. İlk 4 sırayı oluşturan bu mutasyonların sıklık sırası bizim çalışmamızda farklılık göstermektedir. Erden ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 3. sıradaki V726A mutasyon sıklığı açısından bizim çalışmamızda 4. sırada yer almaktadır. Onların çalışmasında 4. sıradaki M680I oranı bizim

çalışmamıza göre oldukça farklıdır. Yeşilada ve arkadaşlarının mutant allel taşıma yüzdeleri bizim çalışmamızla uyumlu gözükmektedir (21).

Hastalarda bulunan mutasyon tipinin hastalığın şiddeti ile ilgisi olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada, kodon 694 mutasyonlarının FMF hastalığının erken görülmesi, atakların daha sık olması, yüksek doz kolşisine gerek duyulması ve amiloidoz gelişme riskinin yükselmesi ile ilişkisi gösterilmiştir (10-12). Bu durum ile ilgili çelişkili çalışmalar olsa da (13,14), bizim çalışmamızda M694V mutasyonu bulunan hastaların büyük bir oranının organ nakli bölümünden istenmesi ilgi çekicidir. Dahiliye bölümünden sonra en çok MEFV mutasyonu organ nakli bölümünden istenen hastalarda çıkmıştır. Organ nakli bölümünden 9 kişide homozigot, 4 kişide heterozigot M694V mutasyonu saptanmıştır. Homozigot M694V mutasyonlarının %60'ını böbrek nakli hastalarının oluşturduğundan hareketle, M694V mutasyonu ile böbrek amiloidozu arasında bir bağlantı bulunabileceği düşünülebilir.

FMF hastalığında genetik testlerin zamanında yapılarak tanının doğrulanması ve hastalık ile ilgili gerekli önlemlerin alınması büyük önem taşımaktadır. Böylece hastalığın en önemli komplikasyonlarından biri olan amiloidoz gelişimine bağlı böbrek yetmezliği önenebilir. Yakın zamanda sekonder amiloidoz gelişiminde azalma görüldüğü ve bunun sebebinin hekimler arasında FMF farkındalığının artışı olduğu ileri sürülmektedir (22). Bu farkındalığın halk arasında da artırılması için gerekli çalışmalar yapılmalıdır.

#### KAYNAKLAR

1. Onen F. Familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 2006;26:489-496.
2. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The international FMF consortium. *Cell* 1997;90:797-807.
3. A candidate gene for familial Mediterranean fever. The French FMF consortium. *Nat Genet* 1997;17:25-31.
4. Touitou I. The spectrum of familial Mediterranean fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001;9:473-483.
5. Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, Tutar E, Ozen S, Topaloglu R, Yilmaz E, Arici M, Bakkaloglu A, Besbas N, Akpolat T, Dinc A, Erken E. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005;84:1-11.
6. Dinc A, Pay S, Turan M, Simsek I. Prevalance of familial Mediterranean fever in young Turkish men [abstract]. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:292.
7. Onen F, Sumer H, Turkay S, Akyurek O, Tunca M, Ozdogan H. Increased frequency of familial Mediterranean fever in Central Anatolia, Turkey. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22(4 Suppl 34):S31-S33.
8. Anonymous. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The International FMF Consortium. *Cell* 1997;90:797-807.
9. Anonymous. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997;17:25-31.
10. Shohat M, Magal N, Shohat T, Chen X, Dagan T, Mimouni A, Danon Y, Lotan R, Ogur G, Sirin A, Schlezinger M, Halpern GJ, Schwabe A, Kastner D, Rotter JI, Fischel-Ghodsian N. Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. *Eur J Hum Genet* 1999;7:287-292.
11. Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, Zaks N, Kastner DL, Pras M, Pras E. MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Amyloid* 1999;6:1-6.
12. Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, Roudot-Thoraval F, Genevieve D, Mndjoyan E, Papazian M, Sarkisian A, Babloyan A, Boissier B, Duquesnoy P, Kouyoumdjian JC, Girodon-Boulandet E, Grateau G, Sarkisian T, Amselem S. Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever. *Am J Hum Genet* 2000;67:1136-1143.
13. Tekin M, Yalcinkaya F, Cakar N, Akar N, Misirlioglu M, Tastan H, Tumer N. MEFV mutations in multiplex families with familial Mediterranean fever: is a particular genotype necessary for amyloidosis? *Clin Genet* 2000;57:430-434.
14. Yilmaz E, Balci B, Kutlay S, Ozen S, Erturk S, Oner A, Besbas N, Bakkaloglu A. Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF-alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. *Turk J Pediatr* 2003;45:198-202.
15. Caglayan AO, Demiryilmaz F, Ozyazgan I, Gumus H. MEFV gene compound heterozygous mutations in familial Mediterranean fever phenotype: a retrospective clinical and molecular study. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2520-2523.
16. Yilmaz E, Ozen S, Balci B et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* 2001;9:553-555.

17. Yalcinkaya F, Cakar N, Misirlioglu N et al. Genotype–phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial Mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis. *Rheumatology* 2000;39:67–72.
18. Olgun A, Akman S, Kurt I, Tuzun A, Kutluay T. MEFV mutations in familial Mediterranean fever: association of M694V homozygosity with arthritis. *Rheumatol Int* 2005;25(4):255-9.
19. Erden G, Bal C ,Güngör Torun O, Uğuz N ,Yıldırımkaya MM. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları Sıklığının İncelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2008;65(1):1-5.
20. Yalcinkaya E, Guran S, Nas BG, Dursun A, Imirzalioglu N. The Importance of Results of MEFV Gene Analysis in Cases Prediagnosed as 'Familial Mediterranean Fever'. *Erciyes Medical J* 2006;28(1):19-24.
21. Yeşilada E, Savacı S, Yüksel Ş, Gülbay G, Otlu G, Kaygusuzoğlu E. Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) Düşünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları. *İnönü Üniversitesi TF Dergisi* 2005;12(4):235-38.
22. Soylu A, Turkmen MA, Kavukcu S. The Rate of Awareness for Familial Mediterranean Fever for Urban Dwellers in Turkey. *Turk J Rheumatol* 2012;27(4):275-277.

---

**Yazışma adresi:**

Giray Bozkaya  
Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Tıbbi Biyokimya, İzmir  
E-mail: giraybozkaya@yahoo.com

---