

# Kahramanmaraş'ta Bulunan Ailevi Akdeniz Ateşli (FMF) Hastaların Moleküler Düzeyde Tanısı

## Molecular Diagnosis of Familial Mediterranean Fever in Patients with Familial Mediterranean Fever in Kahramanmaras

Metin Kılınc\*

Yael Shinar\*\*

Fatma İnanç Tolun\*

Seçil Şimşek İmrek\*

Avi Livneh\*\*

\* Sütçüimam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş  
\*\* Shiba Medical Center, Heller Enstitüsü, FMF Kliniği ve Araştırma Laboratuvarı,  
Tel Hashomer, Tel-aviv - İsrail

### ÖZET

**Amaç:** Ailesel Ak deniz ateşi otozomal resesif bir hastalık olup seröz membranların belirli aralıklarla inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. En belirgin klinik belirtileri ateş ile birlikte karın ağrısıdır. Bunun yansıra artrit, artralji, erizipel benzeri döküntü ve göğüs ağrısı görülebilmektedir. Sıklıkla Yahudilerde, Türklerde, Ermenilerde ve Araplarda görülen bu hastalık adından da anlaşılacağı üzere Akdeniz bölge ülkelerinde yaygındır. Türkiye'de hastalığın oldukça yaygın olarak bulunduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda ilk kez Kahramanmaraş yöresinde muhtemel FMF hastalarında MEFV geni araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Klinik olarak Ailesel Akdeniz ateşi muhtemel tanısı almış olan bireylerin aileleri çalışma kapsamına alınmıştır. Buna göre 5 aileden toplam 20 örnek alındı. Ekstrakte DNA örneklerinden M694V, M680I, V726A, E148Q, mutasyonları ve daha nadir mutasyonlar için exon 10 gen bölgesi taraması yapıldı.

**Bulgular:** Sonuç olarak 6 kişide homozigot M694V, 3 kişide heterozigot M694V, 1 kişide M694V / V726A ve 3 kişide heterozigot E148Q mutasyonları tespit edildi. Bunlardan yalnızca 4 kişinin tanılarını klinik olarak konmuş olup kolşisin kullanmaktaydı.

**Sonuç:** Bu çalışma son uçlarına göre çok sayıda klinik ve moleküler tanısı konmamış hastanın olabileceği düşünülmektedir. Bu araştırmanın bölgedeki gerçek taşıyıcılık oranının bulunması için genişletilerek yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Kahramanmaraş, ailevi akdeniz ateşi (FMF), mutasyon tipleri

### ABSTRACT

**Objective:** Familial Mediterranean Disease (FMF) is an autosomal recessive disorder characterized by recurrent attacks of inflammation affecting the serosal membranes.

Bu çalışma VI. Klinik Biyokimya Kongresinde (27-30 Nisan 2006, Antalya) Sözlü Bildiri olarak sunulmuştur.

It manifests with episodes of fever with abdominal pain, arthritis, arthralgia, erysipelas like erythema and chest pain. FMF mainly affects populations around the Mediterranean basin namely, Jews, Arabs, Turks, and Armenians. Although prevalent in Turkey, the presence of disease in Eastern-Southern Anatolia has not yet been reported. In this study, it was aimed to investigate the MEFV gene for the first time in patients at Kahramanmaraş, a city in eastern Mediterranean region.

**Material and Methods:** The families of the patients who were clinically diagnosed with FMF were taken into the research study. We obtained DNA samples from a total of 20 persons from 5 families and screened their DNA for common MEFV mutations: M694V, M680I, V726A, E148Q, and sequenced exon 10 of MEFV for less common mutations.

**Results :** 13/20 persons had mutations: Six were homozygotes for the M694V mutation, 3 typed heterozygous for the M694V mutation, one patient typed M694V / V726A and 3 patients were heterozygous for the E148Q mutation. Only 4 patients however were treated with colchicine.

**Conclu sion:** These preliminary results suggest a high probability for the presence of FMF patients and/or carriers in the region, and that many patients may be undiagnosed or misdiagnosed in this region. It is therefore very important to determine the frequency and spectrum FMF mutations in the general population as well as to increase the number of FMF genetic analysis centers in Eastern-Southern Anatolia.

**Key Words:** Kahramanmaras, Familial Mediterranean Fever (FMF), Mutation types

## GİRİŞ

FMF otozomal resesif hastalık olup belirli aralıklarla seröz memranların inflamasyonu ile belirtilerini göstermektedir. Ateş, şiddetli karın ağrısı, artrit, artralji, erizipel benzeri eritem ve göğüs ağrısı görülebilmektedir (1). Yakın zamanlarda 16. (13,3) kromozomun kısa kolunda FMF geni (FMFV) tanımlanmıştır, moleküler tanı FMF klinik tanısına yardımcı olmaktadır. Şimdiye kadar 55 FMF mutasyon tipi belirlenmiştir. En sık rastlanan mutasyon tipleri M694V, M694I, M680I ve V726A olup ekson 10 da bulunmaktadırlar ki bu da toplam MEFV allellerinin %70 kadarını oluşturmaktadır (2). Daha az sıklıkla görülen mutasyon tipleri ise ekson 1, 2 (E148Q), 3, 5 ve 9 da bulunmaktadır. MEFV geni 781 amino asit içeren bir proteini kodlamakta olup bu protein marenostin veya pyrin olarak bilinmektedir (3) ve bu proteinin antiinflamatuar özelliği bulunmaktadır. Bu hastalığa etkilenen topluluklar Ermeniler, Araplar, Non Ashkenazi Yahudiler ve Türklerdir. Az sayıda hasta İspanya, Fransa ve İtalya'dan bildirilmiştir. Türk FMF çalışma grubunun sonuçlarına göre hastalığın görülme sıklığı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise 1/5 gibi yüksek değerlerdedir. Bu çalışma grubunun verilerine göre mutasyon tipleri değerlendirildiğinde %51.4 M694V, %14.4 M680I ve %8.6

V726A allelleri bulunmuştur. Bu üç mutasyon tipi toplam mutasyon tipleri içinde %75'lik oranı oluşturmaktadır (4). Kahramanmaraş doğu Akdeniz bölgesinde bulunmaktadır ve daha önce bu bölgede FMF ile ilgili moleküler çalışma yapılmamıştır. Bu ön çalışma ile yöredeki gerçek taşıyıcılık oranının belirlenebilmesi için gerekli çalışmaların başlatılması amaçlanmaktadır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Klinik olarak Ailesel Akdeniz ateşi muhtemelen tanısı almış olan bireylerin aileleri çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışma grubu 5 aileyi oluşturan 20 kişiden oluşmaktaydı. Bu kişilerden yalnız dördü klinik olarak FMF tanısı almış olup kolşistin kullanmaktaydı. Diğerlerine FMF tanısı klinik ve laboratuvar olarak konmamıştı. Bu kişilerden hiçbirisinde böbrek yakınmaları yoktu ve amiloidosis için biyopsi örneği vermemişlerdi. Ancak 3 kişi karın ağrısı ve halsizlik yakınmalarına sahipti.

FMF mutasyon taraması için EDTA'lı tüplere 5 ml venöz kan alındı ve çalışma anına kadar + 4°C'de saklandı. Genomik DNA ekstraksiyonu yüksek saflıktaki PCR hazırlama kiti kullanılarak hazırlandı (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). V726A, M694V, M680I ve E148Q mutasyonları için PCR amplifikasyonu

**Tablo 1.** 4 Ailede bulunan mutasyon tipleri.

Aile no	I	II	III	IV
Mutasyon tipi	B 694/0	B 0/0	B?	B 694/694
	A 694/694	A 148/0	A 694/726	A 694/0
	C1 694/694	C1 148/0	C1 694/694	
	C2 694/694	T1 148/0	T1 694/0	
	C3 694/694			

B: Baba, A: Anne, C: Çocuklar, T: Torun

sonrası, restriksiyon enzim analizi uygulandı. V726A, M694V ve M680I mutasyonları için sırasıyla AluI, HPHI ve HinfI restriksiyon enzimleri ile 37°C'de 90 dakika, E148Q mutasyonu için BSTNI ile 60°C'de 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında E-gel (%4 agarose) elektroforez yapılarak değerlendirildi (5). Buna ilaveten MEFV geni Primer F ve R yardımıyla ekson 10 amplifikasyonu gerçekleştirildi ve BIG DYE metodu ile floresan nükleotidler kullanılarak işaretlendi. Dizin analizi ABI 3130xl cihazı kullanılarak tanımlandı ve Blast ile wild tip dizine göre değerlendirildi (6).

## BULGULAR

Ailelerdeki bireylere göre mutasyon tipleri, MEFV mutasyon sıklığı ve klinik özelliklerin görülme sıklığı sırasıyla tablo 1, 2 ve 3 de gösterilmiştir. Bu 5 aileden yalnız birinde herhangi bir mutasyon tipine rastlanılmamıştır. Altı kişide homozigot M694V, 4 kişide heterozigot M694V, 1 kişide M694V/V726A ve 3 kişide heterozigot E148Q mutasyonu görülmüştür. M680I mutasyonu bulunamamıştır. Ayrıca ekson 10 mutasyon taramasında nadir görülen mutasyon tiplerinden herhangi birine rastlanılmamıştır.

## TARTIŞMA

FMF ile ilgili çeşitli araştırmalar Türkiye'nin büyük merkezlerini kapsayacak şekilde yapılmış, ayrıca Türk FMF araştırma grubu bu çalışmalarını içeren geniş bir araştırma yazısını yayınlamıştır. Gerek önceki gerekse araştırma grubunun çalışmaları daha çok İç Anadolu, Karadeniz ve Batı bölgelerindeki

**Tablo 2.** Kahramanmaraş'ta 4 ailedeki mutasyon sıklığı.

Mutasyon tipi	Allel sayısı	Sıklık yüzdesi (%)
M694V	15	45.5
V726A	1	3.0
I680M	-	0.0
E148Q	3	9.1
Bilinmeyen	14	42.4

**Tablo 3.** M694V mutasyon tipine sahip ailelerdeki klinik yakınmalar.

Klinik özellik	Oran
Karın ağrısı	7/10
Ateş	5/10
Artrit veya artralji	9/10
Miyalji	2/10
Erizipel benzeri eritem	4/10

büyük merkezleri kapsamaktadır (4,7-13). Bu çalışma ile ilk kez Kahramanmaraş yöresindeki hastalarda MEFV geni araştırılmıştır. Kahramanmaraş Doğu Akdeniz'in iç bölgesinde bulunan ve çevresiyle birlikte 1 milyon nüfusa sahip bir yerleşim merkezidir. Kahramanmaraş Doğu ve Güneydoğu'ya açılan bir kapı özelliği taşımaktadır. FMF araştırma grubunun verilerine göre FMF prevalansının 1/1000, taşıyıcılık oranının ise 1/5 gibi yüksek oranlarda olduğundan bahsedilmiştir (4). Bu durumda Kahramanmaraş yöresinde 1000 kadar FMF hastasının ve 200.000 kadar da taşıyıcı olabileceği düşünülmektedir ki bunların büyük bir kısmı tanı konmayan veya yanlış tanı konarak tedavi altına alınan kişilerden oluşmaktadır. Çalışma kapsamına bu aileleri almamızın nedeni ailelerdeki bazı bireylerin klinik olarak FMF tanısı

almış olmasıydı. Bireylerin tamamı Kahramanmaraş doğumlu olup klinik açıdan sorgulandığında, diğer aile bireylerinden bazılarının da muhtemel FMF yakınmalarına sahip oldukları izlendi. Ailelerden ancak 3 kişi yakınmaları nedeniyle hekime başvurmuş ve bunların da genetik testleri yapılmadan FMF tanısı konmuş ve kolşisin tedavisine alınmış idi. Diğerleri ise hastalığını bilmeyen ve rasgele ağrıkesici tedavilerle yakınmalarını gidermeye çalışan kişilerdi. Yakınmalara bakıldığında özellikle homozigot M694V hastalarında klasik yakınmalar görülmesine rağmen E148Q heterozigot hastalarında hafif karın ağrısı ve halsizlik görülmekteydi. Touitou ve ark. (14) M694V mutasyonunda erken genetik tanı yapılarak kolşisin tedavisine başlanmasının komplikasyon olarak amiloidoz gelişimini geciktirebileceğinden bahsetmiştir. Bizim hastalarımızda rutin böbrek fonksiyon testleri dışında herhangi bir test çalışılmamış ve amiloidoz açısından inceleme yapılmamıştır. Yörede kaç hastanın veya taşıyıcının olduğu, hangilerinde amiloidoz bulunduğu kesin olarak bilinmemektedir. Mutasyon tipleri gözleendiğinde Türkiye genelinde görülen mutasyon tiplerinden (4) farklı bir görünüm oluşmadığı izlenmektedir ancak bu sayı karşılaştırma yapmak için yeterli değildir. Türkiye FMF taşıyıcılık oranının bulunduğu diğer ülkelere göre oldukça heterojen bir yapıya sahip ve büyük bir ülkedir. İncelemelerin bölgesel olarak ele alınması ile daha sağlıklı veriler elde edileceği düşünülmektedir. Şu anda da bölgesel olarak prevalans ve taşıyıcılık ile ilgili sağlıklı bir bilgi vermek mümkün görünmemektedir. Eğer bu kadar yüksek bir taşıyıcılık oranı mevcutsa bazı araştırmacılar neonatal tarama programının geliştirilmesi gerektiğini öne sürmektedirler (14). Sonuçta bu çalışma bölgede FMF hastalarının bulunduğunu göstermekle birlikte, bu FMF genetik analizlerinin yapılabileceği tanı merkezlerinin sayılarının artırılması, tarama çalışmaları ile bölgesel prevalans ve taşıyıcılık oranlarının ortaya konulmasının ve ayrıca belirli merkezlerde bu hastaların periyodik takibe alınarak komplikasyonlar açısından izlenmelerine ihtiyaç

duyulduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmanın ileride yapılacak geniş çalışmalarla desteklenmesi gerektiğine inanılmaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Sohar E , Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean Fever: A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* 1967; 43(2): 227-53.
2. French Consortium. A candidate gene for Familial Mediterranean Fever. *Nature Genet* 1997; 17: 25-31.
3. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *The Lancet* 1998; 351: 659-64.
4. Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean Fever (FMF) in Turkey: Results of nationwide multi-center study. *Medicine* 2005; 84(1): 1-11.
5. Kogan A, Shinar Y, Lidar M, Revivo A, Langevitz P, Padeh S, et al. Common MEFV mutations among Jewish Ethnic Groups in Israel: High frequency of carrier and Phenotype III states and absence of a perceptible biological advantage for the carrier state. *Am J Med Gen* 2001; 102: 272-6.
6. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997; 25(17): 3389-402.
7. Akar N, Mısıroğlu M, Yalçınkaya F, Akar E, Çakar N, Tümer N, et al. MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean Fever. *Hum Mutat Mutation in Brief* 1999; 288: 1-5.
8. Akarsu AN, Saatci U, Ozen S, Bakkaloğlu A, Besbas N, Sarfarazi M. Genetic linkage study of Familial Mediterranean Fever (FMF) to 16p13.3 and evidence for genetic heterogeneity in the Turkish Population. *J Med Genet* 1997; 34(7): 573-8.
9. Ertekin V, Selimoğlu MA, Pirim İ. Familial Mediterranean Fever in childhood population in eastern Turkey. *Pediatr Int* 2005; 47: 640-4.
10. Gunasar R, Kasap H, Erken E, Ozer HTE. Comparison of amplification refractory mutatin system and polymerase chain reaction-restriction fragment length polimorphism techniques used for investigation of MEFV gene exon 10 point mutation in Familial Mediterranean Fever patients living in Cukurova region (Turkey). *Genetic Testing* 2005; 9(3): 220-5.
11. Onen F, Sumer H, Turkay S, Akyurek O, Tunca M, Ozdogan H. Increased frequency of Familial Mediterranean Fever in Central Anatolia. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22(4): 31-3.
12. Yılmaz E, Ozen S, Balcı B, Düzova A, Topaloğlu R, Besbas N, et al. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for high carrier

rate in the Turkish Population. Eur J Hum Gen 2001; 9: 553-555.

13. Chen X, Fischel-Ghodsian N, Cercek A, Hamon M, Uğur G, Lotan R, et al. Assessment of pyrin gene mutations in Turks with Familial Mediterranean Fever (FMF). Hum Mutat 1998; 11: 456-60.
14. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. Eur J Hum Gen 2001; 9; 473-83.

**Yazışma adresi:**

Dr. Metin Kılınc  
Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı  
46100 Kahramanmaraş  
Tel : 0.344 221 23 37/358  
GSM: 0.505 377 89 13  
e-posta: kilincmtr@yahoo.com  
mkilinc@ksu.edu.tr

---