

KONYA BÖLGESİ'NDE MEFV GEN MUTASYONLARININ SIKLIĞI VE DAĞILIMI

The Frequency Of Mefv Gene Mutations In Konya

Pelin TAŞDEMİR

ÖZET

Amaç: Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), otozomal resesif geçişli, tekrarlayan ateş ve serozit ataklarıyla karakterize inflamatuvar bir hastalıktır. Bu çalışmada Konya ve çevresinde FMF ön tanısı alan hastalarda MEFV geni mutasyonlarının dağılımını ve sıklığını göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2014-2017 yılları arasında farklı kliniklerden yönlendirilen ve FMF ön tanısı alan 670 hastanın bulguları retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Pyrosekans yöntemi ile yapılan DNA dizi analizi sonucunda MEFV geni için tanımlanmış olan 22 mutasyon araştırıldı. Toplam 670 hastanın 325'inde (%48.5) MEFV gen mutasyonu belirlendi, bunların 163'ü erkek (%50.15), 162'si kadın (%49.85) idi. Mutasyonların frekansları sırasıyla M694V, E148Q, M680I(G>C), V726A ve P369S (sırasıyla, %22.38, %12.98, %9.85, %7.16, %2.53) şeklindeydi.

Sonuç: FMF tanısı almış hastalarda görülme sıklığı açısından cinsiyetler arasında farklılık gözlenmemiştir. Mutasyonların dağılımı ve sıklığı Türk popülasyonunda yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur.

Anahtar Sözcükler: FMF; MEFV geni; Mutasyon dağılımı

ABSTRACT

Aim: Familial Mediterranean fever (FMF) is an inflammatory, autosomal recessive disorder characterized by recurrent episodes of fever and serositis. In this study, we retrospectively analysed MEFV gene frequencies of the patients diagnosed with FMF in Konya region.

Material and Methods: We retrospectively analysed 670 patient diagnosed with FMF and referred to Necmettin Erbakan University Meram Medical School Clinical Genetics Department between 2014-2017 years.

Results: 22 MEFV gene mutations were investigated with Pyrosequencing method. 325 patients (%48.5) had MEFV mutation and 163 patients were male (%50.15), 162 patients were female (%49.85). Allelic frequencies for most common mutations in the mutation positive group were; M694V, E148Q, M680I(G>C), V726A ve P369S (in order, %22.38, %12.98, %9.85, %7.16, %2.53).

Conclusion: Not any significant difference was observed between the male and female patients that diagnosed with FMF. The frequencies of mutations of our FMF patients in comparison to other studies on Turkish population has shown similar distribution of mutations.

Keywords: FMF; MEFV gene; Mutation frequency

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram
Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim
Dalı Konya

Pelin TAŞDEMİR, Dr. Öğr. Üyesi

İletişim:

Dr. Öğr. Üyesi Pelin TAŞDEMİR
Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram
Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı 42080
Meram/KONYA
Tel: 05325025472
e-mail:
pelinvural@hotmail.com

Geliş tarihi/Received: 29.11.2017
Kabul tarihi/Accepted: 20.03.2018
DOI: 10.16919/bozoktip.359462

Bozok Tıp Derg 2018;8(3):35-9
Bozok Med J 2018;8(3):35-9

GİRİŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) (Familial Mediterranean Fever-FMF: OMIM#249100), tekrarlayan kısa süreli ateş ile birlikte karın, göğüs ve eklem ağrıları, eritem benzeri deri lezyonları ile karakterize, otozomal resesif bir hastalıktır (1). Hastaların klinik özellikleri; yaş, etnik köken, mutasyon tipi ve kolşisin kullanımına göre değişiklik gösterir (2). Bazı olgularda gelişen amiloidoz ve renal yetmezlik, etkilenen diğer toplumlara göre Türklerde daha sık görülür. Atakların oluşması ve renal amiloidoz kolşisin kullanımı ile önlenir (3). FMF özellikle Türk, Yahudi, Arap, Ermeni gibi Akdeniz havzası orijinli popülasyonlarda sık karşılaşılan bir hastalıktır (4,5), hastalık aynı zamanda diğer Akdeniz ülkeleri olan Kıbrıs, İtalya, Yunanistan ve İspanya'da da görülmektedir (2,6,7). Türkiye, dünyada FMF hastalarının en fazla olduğu ülkedir (8). FMF sıklığı 1/400-1/1000, taşıyıcılık oranı 1/5 dir (5,9).

1997 yılında tanımlanan MEFV geni, 16. Kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalizedir, 10 ekzondan oluşmuştur ve 781 aminoasit içeren Pirin (Pyrin/Marenostrin) adlı bir proteini kodlar (10,11). Bu protein olgun nötrofil, monosit ve eozinofillerde ekspres edilmekte ve enflamatuvar cevapta rol oynadığı bilinmektedir (12,13). Literatürde bugüne kadar 300'ün üzerinde mutasyon ve polimorfizm tanımlanmış ve bu nükleotid değişikliklerinin büyük kısmının ekzon 2 ve 10'da olduğu gösterilmiştir (14).

Bu çalışmada Konya ilinde FMF ön tanısı almış hastalarda MEFV geninde yaygın görülen mutasyonların sıklığı ve dağılımı değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2014-2017 yılları arasında farklı kliniklerden yönlendirilen ve FMF ön tanısı alan 670 hastanın bulguları retrospektif olarak değerlendirildi. Analiz öncesi hastalardan aydınlatılmış onam formları alındı. Hastalardan alınan 2ml'lik EDTA'lı periferik kan örneklerinden QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH) kiti ile DNA izolasyonu yapıldı. DNA konsantrasyonu Nanodrop spektrofotometre (Thermo Scientific, USA) ile ölçüldü. Elde edilen DNA örnekleri ile MEFV geni

2, 3, 5 ve 10. ekzonlarda bulunan E148Q, P369S, H478Y, F479L, S675N, G678E, M680L, M680I(G>A), M680I(G>C), T681I, I692del, M694V, M694L, M694I, K695R, K695M, R717S, I720M, V722M, V726A, A744S ve R761H mutasyonları için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılan ilgili DNA bölgelerinden Pyrosekans yöntemi ile DNA dizi analizi yapıldı. Pyrosekans yöntemi için biotinle işaretlenmiş reverse primerler kullanıldı, Pyromark Gold Reagents (Qiagen) kullanılarak elde edilen ürünlerin yıkama işlemi Pyromark Vacuum Prep Work-Station (Qiagen) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre gerçekleştirildi.

İstatistiksel değerlendirmeler için SAS University Edition 9.4 programı kullanıldı. Mutasyon tipleri ve cinsiyet ile ilişkili farklılıkların tespiti için Chi-square testi kullanıldı. Tüm istatistiksel veriler için p <0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

FMF ön tanısıyla gelen ve yaşları 1-70 arasında değişen toplam 670 hastanın 333'ü erkek (%49.7), 337'si kadın (%50.3) idi ve bunların toplam 325'inde (%48.5) MEFV gen mutasyonu belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1: MEFV mutasyonlarının cinsiyete göre dağılımı

MUTASYON TİPİ	ERKEK		KADIN		TOPLAM
HETEROZİGOT	94	%46.31	109	%53.69	203
HOMOZİGOT	26	%56.52	20	%43.48	46
BİRLEŞİK HETEROZİGOT	42	%56.75	32	%43.25	74
TOPLAM MUTASYONLU HASTA SAYISI	163	%50.15	162	%49.85	325
NORMAL	171	%49.56	174	%50.44	345
TOPLAM HASTA SAYISI	333	%49.70	337	%50.30	670

Hastaların 46'sında homozigot (%6.86), 203'ünde heterozigot (%30.29), 74'ünde birleşik heterozigot (11.04) ve 2 hastada kompleks heterozigot (%0.29) mutasyon vardı. Toplam hasta sayısı, mutasyon tipleri ve genotip dağılımı Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2: Hastaların genotip dağılımı

MUTASYON	GENOTİP	HASTA SAYISI	YÜZDESİ (%)
HETEROZİGOT	M694V/-	72	10.74
	E148Q/-	54	8.05
	M680I (G>C)/-	25	3.73
	V726A/-	25	3.73
	M680I (G>A)/-	7	1.04
	P369S/-	6	0.89
	A744S/-	4	0.59
	K695R/-	4	0.59
	R761H/-	2	0.29
	F479L/-	1	0.14
	M694I/-	3	0.44
	TOPLAM	203	30.29
HOMOZİGOT	M694V	24	3.58
	M680I (G>C)	11	1.64
	E148Q	5	1.35
	R761H	2	0.29
	M680I (G>A)	2	0.29
	M694I	2	0.29
	TOPLAM	46	6.86
COMPOUND HETEROZİGOT	M694V/M680I G>C	21	3.13
	M694V/E148Q	12	1.79
	M694V/V726A	11	1.64
	E148Q/P369S	8	1.19
	M680I G>C/V726A	7	1.04
	E148Q/V726A	3	0.44
	M694V/R761H	2	0.29
	M694V/M680I G>A	2	0.29
	M694V/M694I	1	0.14
	M694V/A744S	1	0.14
	M694V/P369S	1	0.14
	M694V/F479L	1	0.14
	E148Q/K695R	1	0.14
	E148Q/M680I G>A	2	0.29
	M680I G>C/M680I G>A	1	0.14
	V726A/R761H	1	0.14
TOPLAM	74	11.04	
KOMPLEKS KARYOTİP	E148Q/P369S/M694V	2	0.29
TOPLAM MUTASYONLU HASTA SAYISI		325	48.50
TOPLAM NORMAL HASTA SAYISI		345	51.49
TOPLAM HASTA SAYISI		670	100

Çalışılan 22 mutasyon arasında M694V mutasyonu 150 hastada tespit edildi (%22.38) ve yine toplam 450 allel arasında allel frekansı en fazla olan M694V (%38.66) idi. M694V, hem en sık görülen homozigot hem de heterozigot mutasyon olarak belirlendi. M694V mutasyonu ile birlikte bulunan mutasyonlar sıklık sırasına göre şöyleydi: E148Q, M680I(G>C), V726A ve P369S (sırasıyla, %12.98, %9.70, %6.86, %2.53). MEFV mutasyonlarının allel frekansları Tablo 3'de belirtilmiştir.

Tablo 3: MEFV mutasyonu tespit edilen 450 allelin frekansları

MUTASYON	ALLEL SAYISI	MUTASYONLU ALLEL FREKANSI (%)
M694V	174	38.67
E148Q	92	20.44
M680I(G>C)	76	16.89
V726A	46	10.22
P369S	17	3.78
M680I(G>A)	16	3.55
R761H	8	1.78
M694I	9	2.00
A744S	5	1.11
K695R	5	1.11
F479L	2	0.45
TOPLAM	450	100

TARTIŞMA

FMF; daha çok Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde prevalansı yüksek olan sistemik enflamatuvar bir hastalıktır. Bu hastalığın majör belirtileri ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı, deri lezyonlarıdır. Ülkemizde FMF prevalansının yüksekliği nedeniyle nedeni bilinmeyen ateş ve karın ağrısı tespit edilen tüm hastalar FMF ön tanısıyla genetik laboratuvarlarına refere edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda toplam 670 hastanın 345'inde (%51.49) MEFV mutasyonu tespit edilmiştir.

Moleküler genetik yöntemlerin hızla gelişmesi, FMF etiolojisinde rol alan MEFV genindeki yeni mutasyonların değişik etnik topluluklarda tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Türkiye'de hastalığın prevalansı 1/1000, taşıyıcılık oranı ise %20

olarak bildirilmiştir (5). Daha önce yapılan çalışmalarda; FMF'in her iki cinsiyeti de eşit oranda etkilediği (15,16), erkeklerde daha sık görüldüğü ya da kadınlarda sık görüldüğünü belirten sonuçlar alınmıştır (17,18). Bizim çalışmamızda mutasyonlu olguların %49.85'i (162/325) kadın, %50.15'i (163/325) erkek idi. Sonuçlarımız hastalığın her iki cinsiyette eşit oranda görüldüğünü gösteren çalışmalarla uyumludur (19) (Tablo 4).

Tablo 4: Genotiplerin cinsiyete göre karşılaştırması

Cinsiyet	Heterozigot	Homozigot	Birleşik Heterozigot	p değeri
Erkek	94	26	42	0.17
Kadın	109	20	32	

Çalışmamızda toplam bir ve/veya birleşik heterozigot mutasyon taşıyan hastaların frekansı %50.15 (325/670) iken herhangi bir mutasyon tespit edilmeyen hastaların frekansı %49.56 (345/670) idi. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak değerlendirildi (19,20). Pek çok yayında MEFV gen mutasyonları arasında frekansı en yüksek olarak bulunan M694V bizim çalışmamızda en sık mutasyon olarak yer aldı (%22.38) (3,4,21-23). M694V mutasyonu hem homozigot hem heterozigot mutasyonlarda birinci sıklıkta karşımıza çıktı. İkinci sıklıktaki mutasyon E148Q idi (%12.98). FMF Çalışma Grubunun yaptığı araştırmaya göre Türk FMF hastalarında en sık görülen mutasyonlar sırasıyla M694V, M680I, V726A ve M694I olarak bildirilmiştir. E148Q, bazı çalışmalarda MEFV mutasyonları arasında en az penetran olan hatta polimorfizm olarak kabul edilmesi gereken bir mutasyon olduğu belirtilmiştir (21,24). Başka bir çalışmada E148Q mutasyonunun sağlıklı Türk popülasyonunda en sık rastlanan mutasyon olduğu bildirilmiştir (5). Bizim çalışmamızda E148Q mutasyonu ikinci sıklıkta karşımıza çıkmıştır, bu sonuç pek çok çalışmayla uyumludur (25,26). M680I(G>C), V726A ve P369S mutasyonlarının sıklık sırası ise %9.70, %6.86, %2.53 şeklindeydi. Heterozigot mutasyonlar arasında E148Q ikinci sıklıkta iken M680I(G>C) mutasyonu homozigot mutasyonlar arasında ikinci sıklıkta idi. R761H homozigot mutasyonu daha önce az sayıda çalışmada bildirilmiş olup bizim çalışmamızda 7 hastamızda tespit edilmiştir (26,27). Çalışılan örneklerde 1692del mutasyonuna hiç rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, Konya ve çevresinde yaşayan ve FMF ön tanısı alan 670 hastada, MEFV geni için tanımlanmış 22 mutasyonun dağılımını inceledik. Sırasıyla M694V, E148Q, M680I(G>C), V726A ve P369S mutasyonları daha sık olarak görüldü. İstatistiksel olarak cinsiyetler arasında fark olmadığı tespit edildi. Ancak çalışmamızda toplam 670 hastanın % 51.49'unda MEFV geni mutasyonu tespit edilmesi pyrosekans yöntemiyle çalışılan ve Türk toplumunda sık görülen 22 mutasyon dışında diğer bazı mutasyonların rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu nedenle özellikle FMF hastalığının prevalansı yüksek olan ülkelerde MEFV geni tüm gen sekanslama yönteminin kullanılması nadir, yaygın veya bilinmeyen mutasyonların tespit edilmesi için gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Soriano A, Manna R. Familial Mediterranean fever: new phenotypes. *Autoimmunity Reviews* 2012;12,31-37
2. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet* 1998;28;351(9103): 659-64.
3. Delibaş A, Öner A, Balci B, Demircin G, Bülbül M, Bek K ve ark. Genetik risk factors of amyloidogenesis in familial Mediterranean fever. *Am J Nephrol* 2005; 25(5):434-440.
4. Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine* 2005; Jan;84(1):1-11.
5. Yılmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, ve ark. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(7):553-5.
6. Konstantopoulos K, Kanta A, Deltas C, Atamian V, Mavrogianni D, Tzioufas AG ve ark. Familial Mediterranean fever associated pyrin mutations in Greece. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(5):479-81.
7. La Regina M, Nucera G, Diaco M, Procopio A, Gasbarrini G, Notarnicola C, ve ark. Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy. *Eur J Hum Genet*. 2003; 11(1):50-6.
8. Üreten K, Gönülalan G, Akbal E, Güneş F, Akyürek O, Özbek M, Öztürk MA. 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.
9. Ben-Chetrit E, Toutou I. Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum*. 2009; 61(10):1447-53.
10. Consortium TFF. A candidate gene for Familial Mediterranean Fever. *Nat. Genet*. 1997; 17:25-31.
11. Consortium TIF. 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.
12. Diaz A, Hu C, Kastner DL, Schaner P, Reginato AM, Richards N, Gumucio DL. Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: a prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*. 2004;50(11):3679-89.
13. Centola M, Wood G, Fruct DM, Galon J, Aringer M, Farrel C et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood*. 2000, 15;95(10):3223-31.
14. Infevers, The registry of familial Mediterranean fever (FMF) and hereditary autoinflammatory disorders mutations. <http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers> (Ekim,2017)
15. Yalçinkaya F, Çakar N, Mısırlıoğlu M ve ark. Genotype- phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial Mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis. *Rheumatology*. 2000; 39:67-72.
16. Sayarlıoğlu M, Cefle A, İnanç M ve ark. Characteristics of patients with adult-onset familial Mediterranean in Turkey:analysis of 401 cases. *Int J Clin Pract*. 2005;2:202-205.
17. Yılmaz E, Dinçel N, Sözeri B, Özdemir K, Bulut İK, Berdeli A, Mir MS. Familial Mediterranean fever in children from the Aegean region of Turkey:gene mutation frequencies and phenotype-genotype correlation. *Turk J Med Sci*. 2015;45(6):1198-206.
18. Düşünsel R, Dursun I, Gündüz Z, Poyrazoğlu HM, Gürgöze KM, Dündar M. Genotype- phenotype correlation in children with familial Mediterranean fever in a Turkish population. *Pediatr Int*. 2008; 50:208-212.
19. Dündar M, Emiroğulları FE, Aslıhan K, Taheri S, Baskol M. Common familial Mediterranean fever gene mutations in a Turkish cohort. *Mol Bio Rep*. 2011; 38:5065-5069
20. Akın H, Onay H, Türker E, Çoğulu Ö, Özkınay F. MEFV mutations in patients with familial Mediterranean fever from the Aegean region of Turkey. *Mol Bio Rep*. 2010; 37:93-98.
21. Özen S. Familial Mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *Eur J Pediatr*. 2003; 162(7-8):449-454.
22. Akar N, Mısırlıoğlu M, Yalçinkaya F ve ark. MEFV mutations in Turkish patients suffering from Familial Mediterranean fever. *Hum Mutat*. 2000; 15(1):118-119.
23. Ertekin V, Selimoğlu MA, Pirim İ. Familial Mediterranean fever in a childhood population in eastern Turkey. *Pediatr Int*. 2005; 47(6):640-644.
24. Toutiou I. The spectrum of Familial Mediterranean fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet*. 2001; 9:473-483.
25. Doğan HO, Koca Y, Erden G, Karaaslan Y, Bozat H. Evaluating MEFV mutation frequency in Turkish Familial Mediterranean fever suspected patients and gender correlation: a retrospective study *Mol Biol Rep*. 2012; 39:6193-6196
26. Ülgenalp A. DEGETAM'a yönlendirilen hastalardaki MEFV geni mutasyonlarının dağılımı. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2009; 23:53-58.
27. Dönder A, Balahoroğlu R, Çokluk E, Şekeroğlu MR, Dülger H. Retrospektif moleküler bir çalışma: FMF ön tanısı alan hastalarda MEFV gen mutasyonları. *Tıp Araştırmaları Dergisi*.2012; 10(3):94-98.