

# DEGETAM'a Yönlendirilen Hastalardaki MEFV Geni Mutasyonlarının Dağılımı

THE DISTRIBUTION OF MEFV GENE MUTATIONS IN THE REFERRALS TO DEGETAM

**Ayfer ÜLGENALP**

*Dokuz Eylül Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genetik Bilim Dalı  
Dokuz Eylül Üniversitesi, Genetik Tanı Merkezi (DEGETAM)*

### ÖZET

**Amaç:** Ailesel Akdeniz ateşi (FMF), Akdeniz civarındaki ülkelerde görülen otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır. FMF bulunan hastalar tekrarlayan ateşle birlikte karın ve eklem ağrıları, artrit gibi klinik bulgular göstermektedir. MEFV genindeki missense mutasyonların hastalıktan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda, 1679 Türk hasta ve taşıyıcıdaki 12 yaygın MEFV geni mutasyonunun dağılımını ve sıklığını göstermeyi hedefledik.

**Gereç ve yöntem:** Strip assay metodu kullanılarak MEFV gene mutasyonları araştırıldı: E148Q (ekon 2), P369S (ekon 3), F479L (ekon 5), and M680I (G/C), M680I (G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H (ekzon 10).

**Bulgular:** Sekizyüzdokuz hastada (%50,56) MEFV geni mutasyonu saptandı, 830 (% 49,44) hastada mutasyon saptanmadı. Mutasyonlu 849 olgunun, 133 (7,92%) tanesi mutasyonlar açısından homozigot, 231 (%13,76) tanesi compound heterozigot ve 479 (%28,52) olgu heterozigot olarak bulundu. Altı hastada kompleks genotip gözlemlendi (%0,36). En sık rastlanan mutasyonlar M694V ve sırası ile E148Q, M680I (G/C), V726A olarak bulundu. Ayrıca bu mutasyonlar dışında nadir olarak görülen mutasyonlar da saptandı.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonucunda, MEFV geni için yaygın görülen mutasyonların dağılımını, Türk FMF'li hasta grupları arasında yapılan diğer çalışmalar ile benzer, ancak mutasyon oranlarını düşük bulduk.

**Anahtar sözcükler:** FMF, MEFV geni, mutasyonlar

### SUMMARY

**Objective:** Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive genetic disease that primarily affects populations surrounding the Mediterranean basin. FMF patients suffer from recurrent episodes of fever accompanied by abdominal pain, pleuritis, and arthritis. Missense mutations in the gene for FMF (MEFV) have been shown to be responsible for the disease. The aim of this study was to identify the fre-

**Ayfer ÜLGENALP**

Dokuz Eylül Üniversitesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Genetik BD

Genetik Tanı Merkezi (DEGETAM)

**Tel:** (232) 412 236 66

**e-posta:** ayfer.ulgenalp@deu.edu.tr

quency and distribution of 12 common MEFV mutations in 1679 Turkish patients and carriers..

**Material and method:** Using a strip assay method the following MEFV mutations were investigated: E148Q in exon 2, P369S in exon 3, F479L in exon 5, and M680I (G/C), M680I (G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H in exon 10.

**Results:** Mutations in the MEFV gene were identified in 849 (%50.56) patients and mutation detection was negative in 830 (%49.44) patients. Of those 849 cases with mutations, 133 (%7.92) were homozygous, 231 (%3.76) were compound heterozygous and 479 (%28.52) heterozygous. Complex alleles were observed in six patients (%0.36). The most frequent mutation was M694V, followed by E148Q, M680I(G/C), V726A. Rare mutations were also detected in the patients.

**Conclusion:** Our study with Turkish FMF patients in comparison to others has shown similar distribution of mutations within MEFV gene but their mutation ratios were lower than in other studies.

**Key words:** FMF, MEFV gene, mutations

Ailesel Akdeniz ateşi (Familiyal Mediterranean fever-FMF) özellikle Türk, Musevi, Arap, Ermeni ve İtalyanlar gibi Akdeniz orijinli populasyonlarda sık görülen otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır. FMF'in karakteristik bulguları tekrarlayan kısa süreli ateş ile birlikte karın, göğüs ve eklem ağrıları, eritem benzeri deri lezyonlarıdır. Bazı olgularda gelişen amiloidoz hastalığının en önemli ve hayatı tehdit eden komplikasyonudur (1). FMF'ye neden olan gen (Familiyal mediterranean fever gene; MEFV) 1997 yılında klonlanmıştır (2). MEFV geni 781 amino asid içeren Pirin (Pyrin/Marenostrin) adlı bir proteini kodlar ve 16. kromozomun kısa kolunda (16p13,3) lokalize olmuştur. Granulositlerde eksprese olan bu proteinin, inflamatuvar cevapta negatif regülatör rol oynadığı belirtilmektedir (3,4). On ekzondan oluşan MEFV geninde FMF ile ilgisi olduğu düşünülen yaklaşık 166 mutasyon tanımlanmıştır, bütün bu mutasyonlar ve polimorfizmlerin bulunduğu en son listeye INFEVERS veri tabanından ulaşılabilir (5,6). Hastaların yaklaşık %74'ünde rastlanan mutasyonlar sırasıyla; M694V, V726A, M680I, M694I (ekzon 10) ve E148Q (ekzon 2) olarak bildirilmiştir (6,7). FMF'in ülkemizde görülme sıklığı 1/1000 (8), taşıyıcılık oranı ise değişik araştırmalarda %15-34 arasında rapor edilmiştir. Bir başka deyişle her 5 kişiden birisi taşıyıcı konumundadır (8-13). Ülkemizde bildirilen yüksek taşıyıcılık oranı nedeni ile MEFV geni mutasyonlarının belirlenmesi hastalarda olduğu kadar hastalığı taşıyan diğer aile fertlerinin de saptanarak tedavilerinin başlatılmasında ve genetik danışma verilmesinde önemlidir.

Çalışmamızda, FMF ön tanısı ile refere edilen 1679 örnek MEFV geni için belirlenen 12 yaygın mutasyon yönünden incelenmiş ve Dokuz Eylül Üniversitesi Genetik Tanı Merkezi (DEGETAM)'ne ait veriler olarak sunulmuştur.

## GEREÇ VE YÖNTEM

FMF hastaları için rutin moleküler tanı 2005 yılından itibaren Dokuz Eylül Üniversitesi Genetik Tanı Merkezi (DEGETAM)'nde yapılmaktadır. Farklı sağlık kuruluşlarınınca merkezimize yönlendirilen ve klinik olarak FMF tanısı alan ya da FMF taşıyıcısı olduğu düşünülen 1679 olgu bu çalışmaya dahil edilmiştir. Genomik DNA standart metodlar kullanılarak periferik kan lökositlerinden elde edilmiş, DNA'ların konsantrasyonu spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (NanoDrop 100). Elde edilen DNA örnekleri, MEFV geni için yaygın olduğu düşünülen seçilmiş ve 12 mutasyonu kapsayan (E148Q, P369S, F479L, M680I (G/C), M680I (G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H), ters hibridizasyon yöntemini temel alan strip assay kiti (FMF Strip Assay, ViennaLab Labordiagnostika GmbH) kullanılarak incelenmiştir (14-15).

## BULGULAR

FMF ön tanısı ile yönlendirilen 1679 olgunun 849 (%50,56)'unda mutasyon belirlenmiştir. Bunlardan 370 (%22) tanesinin her iki allelinde mutasyon tanımlanmış olup, 133 (%7,89) olgu homozigot, 231 (%13,70) olgu

farklı kombinasyonlarda mutasyon içeren birleşik heterozigot, 6 (%0,36) olgu ise allellerinde ikiden fazla mutasyon içeren kompleks heterozigot olarak bulunmuştur. Dörtüüz yetmişdokuz hastanın (%28,52), tek allelinde mutasyon saptanmıştır. Sekizyüz otuz hastada (%49,44) ise mutasyon saptanmamıştır (Tablo I). En yaygın mutasyonlar sırasıyla M694V (%16,86), E148Q (%5,96), [M680I (G/C) (%5,30)], V726A (%3,57) olup, P369S, R761H, M694I, F479L, K695R, A744S ve M680I (G/A) mutasyonları daha nadir olarak bulunmuştur (Tablo II). Toplam 1679 örnekte 11 farklı mutasyon saptanmış ve hastalarda l692del mutasyonuna hiç rastlanmamıştır.

**Tablo I.** FMF'li hastaların genotipleri

Mutasyon	Genotip	Hastalar	
Heterozigot	M694V	217	
	E148Q	100	
	M680I(G/C)	53	
	V726A	41	
	F479L	10	
	P369S	17	
	A744S	11	
	K695R	16	
	R761H	8	
	M680I(G/A)	1	
	M694I	5	
	Toplam	479	
	Homozigot	M694V	95
		E148Q	9
M680I(G/C)		19	
V726A		4	
F479L		1	
R761H		1	
M694I		4	
Toplam		133	
Compound heterozigot		E148Q/M694V	35
		E148Q/M694I	2
	M680I(G/C)/M694V	57	
	M680I(G/A)/M694V	1	
	M680I(G/C)/M694I	1	
	M694V/V726A	36	
	M694I/V726A	1	
	E148Q/V726A	6	
	M680I(G/C)/V726A	17	
	M680I(G/A)/V726A	1	
	M680I(G/C)/R761H	6	

	P369S/M694V	2
	K695R/M694V	2
	R761H/M694V	15
	R761H/M694I	1
	F479L/V726A	6
	M680I(G/C)/E148Q	5
	E148Q/P369S	20
	M694V/M694I	5
	F479L/M694V	3
	R761H/V726A	1
	M680I(G/C)/P369S	1
	E148Q/R761H	3
	K695R/V726A	1
	E148Q/A744S	1
	E148Q/F479L	1
	P369S/K695R	1
	Toplam	231
Kompleks mutasyonlar	E148Q/E148Q/M694V	1
	E148Q/M694V/V726A	1
	E148Q/P369S/V726A	1
	E148Q/P369S/M694V	1
	E148Q/E148Q/P369S	2
	Toplam	6
Mutasyon tanımlanan hastalar		849
Mutasyon tanımlanmayan hastalar		830

**Tablo II.** MEFV geni mutasyonları için taranan 1679 örnekte mutasyonların dağılımı

Mutasyon	Allel sayısı (n)	Frekans (%)
M694V	566	16,86
E148Q	200	5,96
M680I (G/C)	178	5,30
V726A	120	3,57
P369S	45	1,34
R761H	36	1,07
M694I	23	0,68
F479L	22	0,66
K695R	20	0,60
A744S	12	0,36
M680I (G/A)	3	0,08
l692del	0	
Toplam	1207	35,94
Bilinmeyen	2151	64,00

n= 3358

## TARTIŞMA

Türk popülasyonu; Yahudi, Arap ve Ermeniler ile birlikte FMF gelişimi açısından genetik olarak etnik bir topluluktur. Türk'ler arasındaki taşıyıcılık oranı %20'dir (11). Şimdiye kadar yapılan çeşitli çalışmalarda Türk FMF hastalarında en yaygın mutasyonlar, M694V, M680I, V726A ve M694I olarak bildirilmiştir (9,11,16,17). Türk hastalarla yapılan diğer çalışmalarda, M694V tüm gruplar içinde en sık rastlanan mutasyon olup allel sıklığı genellikle %41 ile %51,66 arasında değişmektedir (18). M694V için en düşük oran %18,3 olarak Diyarbakır'dan bildirilmiştir (19). Bizim hasta grubumuzda ise M694V %16,86 olarak bulunmuştur. Bütün çalışmalara bakıldığında olgularımızda, M694V mutasyonunun diğer çalışmalara göre allel sıklığı düşük saptanmıştır. Olgularımızdan 95 tanesinde (%6) homozigot M694V mutasyonu görülmüştür. FMF-TR çalışma grubu, M694V için homozigot olan bireylerde, hastalığın daha erken yaşta ortaya çıktığını ve artrit ve artraljinin daha yüksek oranda görüldüğünü bildirilmektedir (16). Birleşik heterozigot 231 ve kompleks genotipe sahip 6 hastamızda da M694V mutasyonuna en sık (%33,5) rastlanmıştır. Yine 217 heterozigot olguda M694V mutasyonu %48 sıklıkta bulunmuştur. İkinci en yaygın mutasyon daha çok bir polimorfizm gibi de düşünülen ve mild fenotiplerle birlikte bulunan E148Q (%5,96) olarak saptanmıştır. İlginç olarak kompleks genotipe sahip 3 hastada homozigot, 3 hastada ise heterozigot olmak üzere tümünde E148Q mutasyonu görülmüştür. Heterozigot durumdaki hastalarda, bu allelin ikinci sıklıkla görülmesi daha önce genel popülasyondaki (20) ve Türk popülasyonu'ndaki (11) sağlıklı kişilerde en sık rastlanan allel olarak bildirilmesi ile paralellik göstermektedir. Olgularımız arasında M680I G/C mutasyonu (%5,30) ve V726A (%3,57) mutasyonuna üçüncü ve dördüncü sıklıkla rastladık. V726A mutasyonu, Türk hastalarla yapılan çalışmalarda M694V ve M680I'G,7'den sonra en yaygın mutasyon olarak bildirilmiştir (16,21). Homozigot mutasyonlar arasında, V726A mutasyonu 4 olgumuzda (%3) bulunmuştur. M680I G/C mutasyonuna ise homozigot mutasyonlar arasında, %14 gibi yüksek bir oranda rastlanmıştır. En yüksek homozigotluk oranını M694V mutasyonu (%71) göstermiştir. Çalışmamızda, P369S (%1,34) ve R761H (%1,07) mutasyonları en sık

rastladığımız nadir mutasyonlardır. R761H homozigot olarak şu ana kadar Türk hastalar arasında bildirilmemiş olup, hastalarımız arasındaki bir olguda R761H homozigotluğu saptanmıştır (21). Çalışılan örneklerde 1692 del. mutasyonuna hiç rastlanmamıştır. Literatürde diğer Türk gruplarından bir tanesinde, 1692 del. mutasyonu %1 olarak bildirilmiştir (19). M694I, F479L, K695R, A744S, M680I (G/A) bazı popülasyonların aksine çalışmamızda nadir olarak bulunmuştur (20). Hasta grubumuz daha önce Türkiye'den bildirilenler arasında örnek sayısı açısından en fazla olmaktadır ve Ege bölgesinden bildirilen diğer büyük hasta grubunun sonuçları ile mutasyon dağılımı açısından benzerlik göstermektedir (22). FMF çocukluk yaş grubunda cinsiyet ayrımı gözetmezken, erişkin yaş grubunda erkeklerde 1-2 kat daha sık görülmektedir. Bu durum kadın seks hormonlarının atakları önleyici nitelikte olması ile açıklanabilir. Ancak, çalışmamızdaki mutasyonlu olguların %56'sının (475/849) kadın, %44'ünün (374/849) erkek olması daha önce Karadeniz bölgesinden fenotip üzerine cinsiyetin etkisi şeklinde vurgulanarak %63 olarak bildirilen mutasyonlu kadın olgu oranı ile benzerlik göstermektedir (23).

Sonuçta, Türkiye'deki diğer çalışmalarla benzer mutasyon dağılımı göstermemize rağmen, düşük mutasyon oranları bulduk. Mutasyonlu hastalarımızın oranı %50,56 olup olgularımızın yarısında mutasyon gösteremedik. Literatürde tanımlanamamış mutasyon oranları Arap toplumunda %38, Ermenilerde %16, Yahudilerde %20, Türklerde %21, Yunanlılarda %43, İtalyanlarda %32, Fransızlarda %80, İspanyollarda %50 olarak bildirilmektedir (22). Merkezimize gönderilen grupların oldukça heterojen olması, kullandığımız metodun belirli mutasyonlar ile sınırlı kalması ve bu nedenle daha nadir görülebilecek veya bilinmeyen mutasyonların atlanması, genetik heterojenite ve patofizyolojisi henüz tam olarak açıklanamamış olan FMF üzerinde başka genlerin de rolü olması düşük mutasyon oranlarımız üzerinde etkili olabilir. Ayrıca genellikle doğu Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde yaygın görülen bu hastalığın orta ve batı Akdeniz ülkelerinde çok daha az sıklıkla görülmesi, komşumuz Yunanistan'daki taşıyıcılık oranınının da çok düşük bildirilmesi bize sonuçlarımızın bölgesel bir özellik oluşturabileceğini de düşündürmektedir (24).

**KAYNAKLAR**

1. Livhen A, Langevitz P, Zemer D et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1879-1885.
2. International FMF Consortium: Ancient missense mutations in a new member of the RoRetgene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell* 1997; 90: 797-807.
3. Shoham NG, Centola M, Mansfield E, et al. Pyrin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *Proc Nat Acad Sci* 2003; 100: 13501-13506.
4. Yu JW, Fernandes-Alnemri T, Datta P et al. Pyrin activates the ASC pyroptosome in response to engagement by autoinflammatory PSTPIP1 mutants. *Molec Cell* 2007; 28: 214-227.
5. INFEVERS The registry of Familial Mediterranean fever (FMF) and hereditary Autoinflammatory Disorders Mutations. <http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>. Accessed 11 Mar 2008.
6. Jarjour RA. Familial Mediterranean fever in Syrian patients: MEFV gene mutations and genotype-phenotype correlation. *Mol Biol Rep* 2009; Published online: March.
7. Toutou I. Standardized testing for mutations in familial Mediterranean fever. *Clin Chem* 2003; 49: 1781-1782.
8. Ozen S. Vasculopathy, Behçet's syndrome, and familial Mediterranean fever. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 393-398.
9. Akar N, Misiroğlu M, Yalcinkaya F et al. MEFV mutations in Turkish patients suffering from familial Mediterranean fever. *Hum Mut* 2000; 15:118-119.
10. Yalcinkaya F, Tekin M, Çakar N, Akar E, Akar N, Tümer N. Familial Mediterranean fever and systemic amyloidosis in untreated Turkish patients. *Q J Med* 2000; 93:681.
11. 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. *Europ J Hum Genet* 2001; 9: 553-555.
12. Güran Ş, Gök F, Erdem H, Erdil A, Yakıcıer C, Dursun A, Orkunoğlu FE, İmirzalıoğlu N. Ailesel Akdeniz Ateşi- "Familial Mediterranean Fever-FMF" düşünülen olgularda MEFV gen mutasyonları. *Moleküler Tanı Dergisi* 2003;1:42-44.
13. 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;25:255-259.
14. Oberkanins C, Weinhausel A, Kriegshauser G, Moritz A, Kury F, Haas OA. Genetic testing for familial Mediterranean fever in Austria by means of reverse-hybridization test strips. *Clin Chem* 2003;49:1948-1950.
15. 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;49:1942-1945.
16. Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: Results of a nationwide multicenter study. *Medicine*, 2005; 84:1-11.
17. Yalçinkaya F, Çakar N, Mısırlıoğlu M4, 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. Gunesacar R, Kasap H, Erken E, Ozer H. Comparison of Amplification Refractory Mutation System and Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Techniques Used for the Investigation of MEFV Gene Exon 10 Point Mutations in Familial Mediterranean Fever Patients Living in Çukurova Region (Turkey). *Genetic Testing* 2005;9:220-225.
19. Pasa S, Altintas A, Devcioglu B et al. Familial Mediterranean fever gene mutations in the Southeastern region of Turkey and their phenotypical features. *Amyloid* 2008; 15:49-53.
20. Toutou I The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9:473-483.
21. 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; 27:729-732.
22. 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* DOI 10.1007/s11033-009-9543-9531.

23. Gunel-Ozcan A, Sayın DB, Mısırlıoğlu E, Güliter S, Yakaryılmaz F, Ensari C. The spectrum of FMF mutations and genotypes in the referrals to molecular genetic laboratory at Kırıkkale University in Turkey. *Mol Biol Rep* (2009) 36:757–760 DOI 10.1007/s11033-008-9240-9245.
24. Gkretsi V, Deltas C, Yapijakis C, Lamnissou K. Screening for Familial Mediterranean Fever M694V and V726A mutations in the Greek population. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009; 13: 291-293.