



Ailevi Akdeniz Ateşinde Moleküler Tanı Deneyimi: MEFV Geninde Sık Görülen Mutasyonlar

Molecular Diagnosis Experience in Familial Mediterranean Fever: The Most Frequent Mutations in the MEFV Gene

● Ender Coşkunpınar, ● Ayla Özvarnalı, ● Kıvanç Çefle, ● Ayşe Palanduz*, ● Ahmet Gül**, ● Derya Öztürk, ● Şükrü Öztürk, ● Şükrü Palanduz

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

**İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aile Hekimliği Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

***İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Öz

Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) tarihsel olarak en eski ve en yaygın otozomal resesif geçişli otoenflamatuvar hastalıktır. Bilinen bir patojen ya da otoantikor bulunmamaktadır. Hastalık karın ağrısı ve ateş hecmeleriyle manifest olmaktadır ve bu dönemler "atak dönemi" olarak adlandırılır. Çalışmamızda AAA hastalığında, *MEFV* geni üzerinde, Türk toplumunda en sık mutasyona uğrayan bölgelerin tespiti amaçlandı.

Yöntemler: Çalışmaya toplam 1840 ön tanıli olgu dahil edildi. Periferik kandan kit protokolüne uygun olarak DNA izole edildi. *MEFV* genindeki 22 hedef bölge polimeraz zincir reaksiyonu metodu ile çoğaltıldı. Pyrosequencing metodu ile hedef bölge gen dizinlemesi yapıldı.

Bulgular: Hastalar yaş gruplarına göre iki gruba ayrılarak incelendiğinde <18 yaş grubunda yer alan 866 (454 kadın ve 412 erkek) hastanın ortalama yaşları 8,5±7,5'dir. Bu grupta yer alan hastalardan 547'sinde AAA ile ilişkilendirilen bir mutasyon saptanmadı. ≥18 yaş grubunda yer alan 974 (605 kadın ve 369 erkek) hastanın ortalama yaşları 35,4±12,5'dir. Bu grupta yer alan hastalardan 477'sinde AAA ile ilişkilendirilen bir mutasyona rastlanmadı.

Sonuç: Tıbbi genetik bilim dalına 2014-2016 yılları arasında AAA ön tanısı ile gelen 781 erkek ve 1059 kadın olmak üzere toplam 1840 olgu *MEFV* geni üzerinde lokalize 22 ayrı mutasyon açısından analiz edildi. Bulgularımızın analizi elde edilen verilerin daha önceki Türk toplumuna ilişkin çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Ailevi Akdeniz Ateşi, *MEFV* geni, pyrosequencing, mutasyon

Abstract

Aim: Familial Mediterranean Fever (FMF) is the most frequent and historically the oldest autosomal recessive autoinflammatory disorder. No pathogen or auto-antibody has been shown to be associated with FMF. The disorder manifests with bouts of fever and abdominal pain, which are called "attacks". In the present study, we aimed to find the most frequent mutations in the *MEFV* gene in the Turkish population.

Methods: Thousand eight hundred and forty patients with an initial diagnosis of FMF were enrolled in the study. DNA was extracted from the peripheral blood according to the kit protocol. Twenty-two target sequences of the *MEFV* gene were amplified with polymerase chain reaction and sequenced with the pyrosequencing method.

Results: When the patients were divided into two groups according to age, the mean age of 866 patients was 8.5±7.5 years in <18 age group, and that of 974 patients was 35.4±12.5 years in ≥18 age group. No mutations associated with FMF were found in 547 of patients in <18 age and 479 of the patients in ≥18 age groups.

Conclusion: In the present study, we evaluated the frequency of 22 mutations in *MEFV* in 1840 patients, who had been admitted to the medical genetics division between the years 2014 and 2016 with an initial diagnosis of FMF. Analysis of our findings showed that our data are in agreement with previous publications concerning Turkish population.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, *MEFV* gene, pyrosequencing, mutation

Giriş

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) otozomal resesif geçişli, yüksek ateş ve enflamasyona bağlı ağrı atakları ile seyreden özellikle Musevi, Arap, Ermeni ve Türk toplumlarında yaygın olarak görülen genetik bir hastalıktır (1). Aile öyküsünün pozitif olması tanıyı destekleyen önemli bir bulgudur. Bununla birlikte ailede başka bir indeks olgu bulunmayabilir (2). Hastalığa sebep olan *MEFV* geni kromozom 16p13.3 bölgesinde lokalizedir. On ekzon, 781 aminoasitten oluşur ve "Pyrin" proteinini kodlar (3). Pyrin proteini amino ucu, karboksil uç (B30.2 domaini), coiled coil domaini ve B-box zinc finger domaini olmak üzere dört farklı domain içerir (Şekil 1). Bir transkripsiyon faktörü olan ve normalde çekirdekte bulunan pyrin in transfekto modellerde ve monositlerde sitoplazmada yer alır (4). *MEFV* geni üzerinde bugüne kadar tanımlanmış olan mutasyonlar Tablo 1'de verilmiştir (5). *MEFV* geninde meydana gelen mutasyonlar, pyrin ekspresyonunu azaltır ve interlökin (IL)-1 β 'ı aktive eden kaspaz-1 enflamasyon kontrol mekanizmasındaki işlevini yerine getiremediğinden uyarılmış olan enflamasyon durdurulamaz (6). Pyrin proteininin IL-1 β işlenmesini

engellemesi ve makrofaj apoptozuna izin vermesi, fonksiyonel olarak antienflamatuvar bir molekül olduğunu göstermektedir. Bu mekanizmaların bir sonucu olarak klinik tablo yüksek ateş ve sınırlı enflamasyon atakları ile seyrederek (2,7,8). AAA hastaları tekrarlayan ve görünüşte sebepsiz olduğu düşünülen ancak sıklıkla artrit, peritonit, plörit ve bölgesel erizipel benzeri eritemlerle ilişkili olabilen yüksek ateşten muzdarip olurlar. Bu ataklar genellikle 12-72 saat sürer ve bu enflamatuvar reaksiyon polimorf nüveli lökositlerin etkilenmiş dokular içerisine akını ile karakterizedir (8). Halen AAA tanısı için kullanılmakta olan spesifik bir laboratuvar testi bulunmamaktadır. Oysa AAA, özellikle M694V homozigot mutasyona sahip hastalarda amiloidoza ve buna bağlı yüksek mortalite ve morbiditeye neden olan bir hastalıktır (9). Akut enflamasyonla seyreden olaylarda değiştiği bilinen akut faz proteinleri (C-reaktif protein, fibrinojen, seruloplazmin, haptoglobülin, serum amiloid A proteini, eritrosit sedimentasyon hızı, beyaz küre sayısı) atak sırasında artar ve atak sonrasında normale döner. Amiloidoz gelişen olgularda ve akut atak döneminde proteinüri görülebilir. Ülkemizde AAA sıklığı 1/1000 ve

Tablo 1. *MEFV* geni ekzon 2, 3, 5 ve 10 üzerinde dizileme yapılan bölgelere ait primer dizileri ve bulunan mutasyonlar

No	Mutasyon	Ekzon	Normal genotip	Mutasyon tespit edilenler N=609 (%)	Primer dizisi
1	E148Q	2	CC	146 (24)	G GGG CTG GCT G
2	P369S	3	GG	31 (5)	A GCT TAG GCT
3	H478Y	5	CC	-	A/G GAG IAT TTC TTT GTG
4	F479L	5	CC	5 (0,8)	A/G GAG CAT TTG TTT GTG
5	S675N	10	GG	-	A AAC AGG AAA GGG AAC ATG ACT CTG T
6	G678E	10	GG	1 (0,2)	A AGC AGG AAA GAG AAC ATG ACT CTG T
7	M680I (G>C)	10	GG	1 (0,2)	A AGC AGG AAA GGG AAC ATC ACT CTG T
8	M680I (G>A)	10	GG	1 (0,2)	A AGC AGG AAA GGG AAC ATA ACT CTG T
9	M680L	10	AA	53 (8,7)	A AGC AGG AAA GGG AAC CTG ACT CTG T
10	T681I	10	CC	-	A AGC AGG AAA GGG AAC ATG AIT CTG T
11	I692del	10	ATA	-	G – ATG ATG AAG GAA AAT GA
12	M694V	10	AA	294 (48,3)	G ATA ATG GTG AAG GAA AAT GA
13	M694I	10	GG	-	G ATA ATG ATA AAG GAA AAT GA
14	M694L	10	AA	-	G ATA ATG ITG AAG GAA AAT GA
15	K695R	10	AA	12 (2)	G ATA ATG ATG AGG GAA AAT GA
16	K695M	10	AA	-	G ATA ATG ATG AIG GAA AAT GA
17	R717S	10	CC	-	AGT GTG GGC AIC TTC/T GTG GAC/T TAC AGA GTT GGA AGC
18	I720M	10	CC	-	CGT GTG GGC ATG TTC/T GTG GAC/T TAC AGA GTT GGA AGC
19	V722M	10	GG	1 (0,2)	CGT GTG GGC ATC TTC/T ATG GAC/T TAC AGA GTT GGA AGC
20	V726A	10	TT	36 (5,9)	CGT GTG GGC ATC TTC/T GTG GAC/T TAC AGA GCT GGA AGC
21	A744S	10	GG	11 (1,8)	A TTC TCC AGC
22	R761H	10	GG	17 (2,8)	A CAT GAT

CC: Coiled coil

AAA taşıyıcı oranı 1/5-1/10 olarak bildirilmektedir (10). Hastalık, özellikle akraba evliliklerinin sık olduğu ülkemizde ve Akdeniz çevresindeki ırklar ve etnik gruplarda (Yahudiler, Ermeniler, Türkler ve Araplar) nispeten daha sıktır (2). AAA hastalığında en sık görülen M694V, M680I ve V726A mutasyonları genin 10. ekzonunda bulunmaktadır. 2001 yılında yapılmış olan çalışmaya göre Türk AAA hastalarında *MEFV* geninde en sık görülen mutasyonların oranı; M694V için %51,55, M680I için %9,22, E148Q için %3,55, V726A için %2,88, M694I için %0,44 olarak belirlenmiş ve Türk popülasyonundaki AAA taşıyıcılığı %20 olarak rapor edilmiştir (11). Bugüne dek *MEFV* geninde 100'den fazla mutasyon tanımlanmıştır ve M694V, M680I, V726A, E148Q en sık görülen mutasyonlar olarak belirlenmiştir (5). Bu çalışmada AAA hastalığında, *MEFV* geni üzerinde yer alan, hastalığın tanısı ve prognostik değerlendirmesinde kullanılabilir, Türk toplumunda en sık mutasyona uğrayan bölgelerin tespiti amaçlandı. Sonrasında elde edilecek verilerin kullanımı ile Türk toplumuna özgü mutasyonların belirlenerek taranabileceği valide tanı kitleri geliştirilmesi de sekonder amacımız olarak belirlenmiştir.

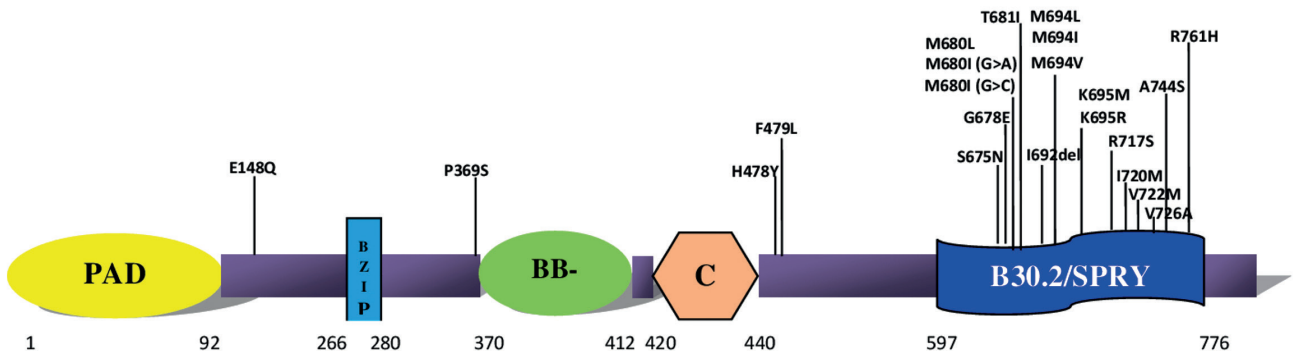
Yöntemler

Öncelikle çalışmaya girmeyi kabul eden gönüllülere çalışmayla ilgili tüm bilgilerin yer aldığı Helsinki Deklarasyonu uyarınca bilgilendirilmiş gönüllü olur formu okutulmuş ve gönüllülerin imzası alındı. Çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (no: 2014/929). On sekiz yaşından küçük hastalar için aynı işlem hastanın ebeveyni ya da yakınlarının onuru alınmak suretiyle gerçekleştirildi. Rutin izlem protokolü sırasında alınan 5 mL periferik kandan kit protokolüne uygun olarak EZ-1 (Qiagen, GmbH) izolasyon robotu ile DNA izole edildi. Elde edilen DNA örnekleri ile konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu yapılarak *MEFV* geni üzerinde, hedef bölgeler çoğaltıldı. Pyrosequencing metodu ile hedef bölge gen dizinlemesi yapılarak ekzon 2 bölgesindeki E148Q, ekzon 3 bölgesindeki P369S, ekzon 5 bölgesindeki H478Y ve F479L, ekzon 10 bölgesindeki

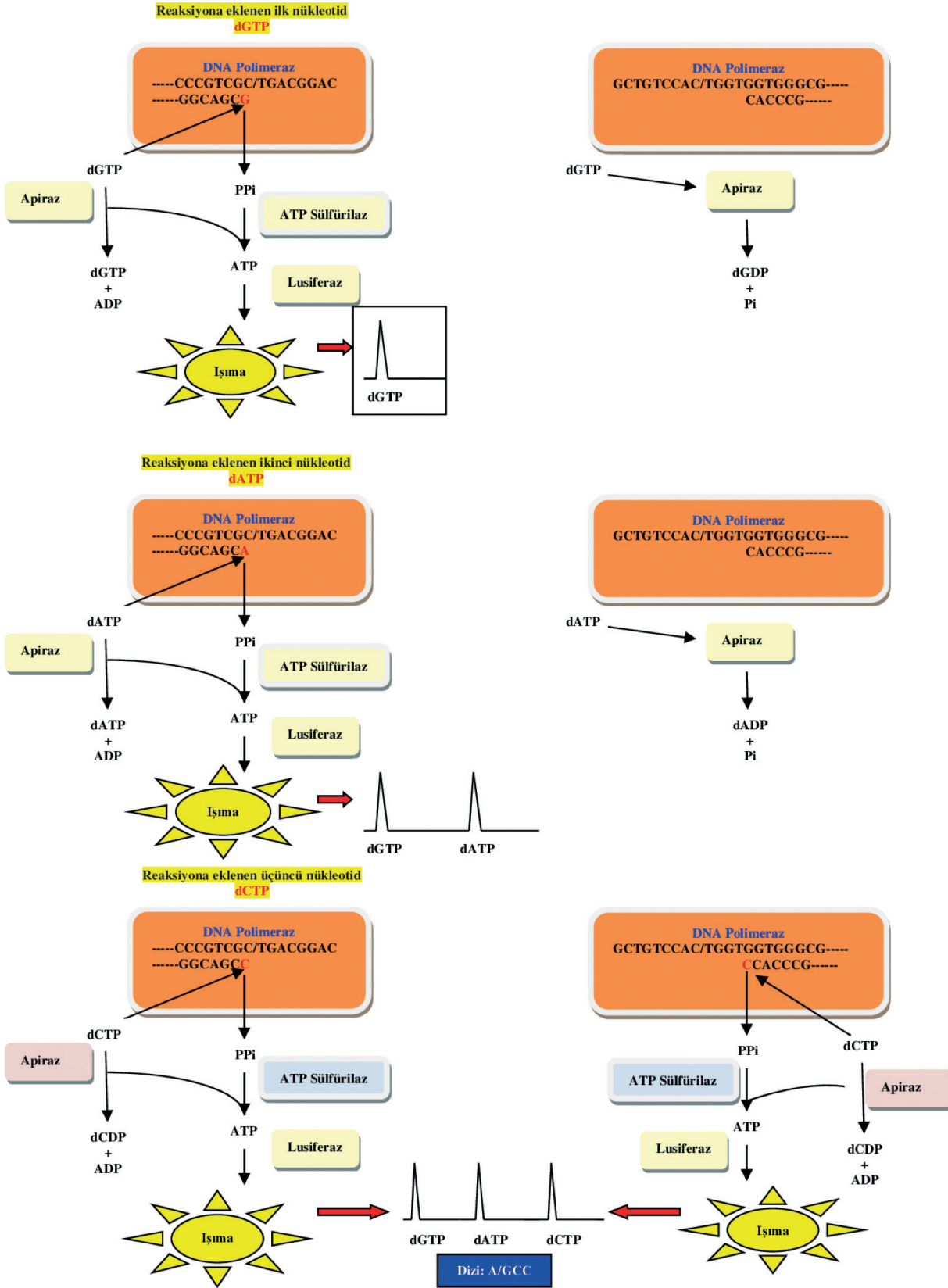
S675N, G678E, M680I (G>C), M680I (G>A), M680L, T681I, I692del, M694V, M694I, M694L, K695R, K695M, R717S, I720M, V722M, V726A, A744S, ve R761H mutasyonları analiz edildi. Genotipleme için "Pyrosequencing metodu" kullanıldı. Bu metod elektroforetik olmayan bir DNA dizileme teknolojisidir. Dizileme işlemi tek iplikli DNA'ya komplementer olan dizinin DNA polimeraz enzimi aktivitesiyle sentezi ve işaretli primerlerin kalıp DNA üzerine sırayla (A,G,C,T) ve teker teker bağlanmasıyla karakterize edilmektedir. Pyrosequencing metodu nükleotid bağlanmaları sırasında kalıp DNA zincirine komplementer bir nükleotid bağlandığında lusiferaz etkisiyle ortaya çıkan ışımının ölçülerek meydana gelen nükleotid değişimlerinin tespitine dayanan hızlı ve oldukça güvenilir bir yöntemdir (Şekil 2). Sonuçların hem grafik ve hem de kromatogram olarak gösterilmesi ve 96 örneğin genotipleme süresinin 10 dakika olması da yöntemin avantajları arasında sayılabilir (Şekil 3).

Bulgular

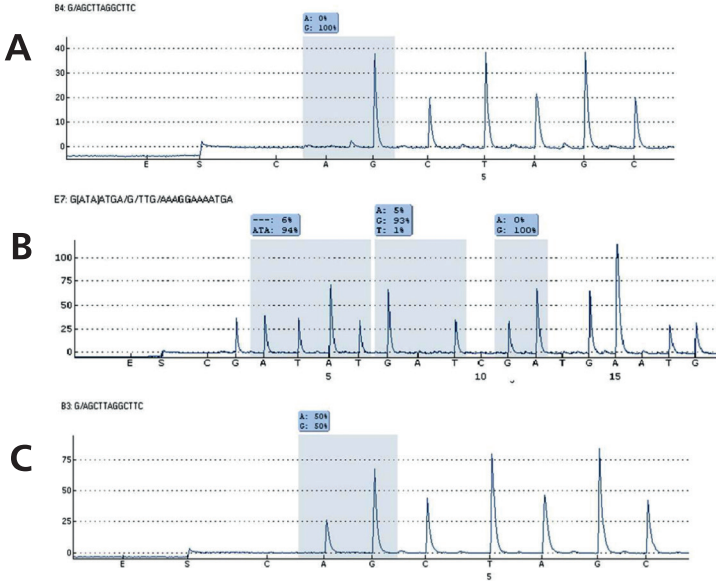
Çalışmaya dahil olan 1840 (Ek 1) ön tanıli olgunun 866'sı <18 yaş idi ve bunların 547'si taranan mutasyon bölgelerinde herhangi bir değişikliğe sahip değildi. Dokuz yüz yetmiş dördü >18 yaş idi ve bunların 477'si taranan mutasyon bölgelerinde herhangi bir değişikliğe sahip değildi (Tablo 2a, b). Olguların 1059'u kadın 781'i erkekti. Çalışmaya katılan tüm olguların yaş ortalaması 23 olarak tespit edildi. Hastalar yaş gruplarına göre iki gruba ayrılarak incelendiğinde <18 yaş grubunda yer alan 866 (454 kadın ve 412 erkek) hastanın ortalama yaşları 8,5±7,5'tir. ≥18 yaş grubunda yer alan 974 (605 kadın ve 369 erkek) hastanın ortalama yaşları 35,4±12,5'tir. Tüm olgular ele alındığında mutasyon bulunan olgu sayısı 609'dur. Bunlardan 294'ü (%48,3) M694V, 146'sı (%24) E148Q, 53'ü (%8,7) M680L, 36'sı (%5,9) V726A, 31'i (%5) P369S, 17'si (%2,8) R761, 12'si (%2) K695R, 11'i (%1,8) A744S ve her biri birer olgu (%0,2) olmak üzere V722M, G678E, M680I (G>C), M680I (G>A) olarak tespit edildi. İkili ve üçlü mutasyona sahip olgular hem taşıdıkları mutasyon tipine göre hem de



Şekil 1. Pirin proteini domainleri ve incelenen mutasyon bölgeleri



Şekil 2. Diye ait primer polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifiye edilen tek zincirli DNA kalıbına hibridize olur. DNA polimeraz, adenozin trifosfat sülfürilaz, lusiferaz, apiraz enzimleri ve substratları olan adenozin 5' fosfosülfat ve lusiferin ile inkübe edilir. Dört deoksiniükleotid trifosfat sırasıyla reaksiyona eklenir. DNA polimeraz, eğer kalıba komplementer ise, eklenen deoksiniükleotidlerin DNA zincirine yerleşimini kataliz eder. Her nükleotid yerleşimine, yerleşen nükleotid miktarı kadar pirofosfat salınımı eşlik eder. Ortaya çıkan ışına ile oluşan pikler sayesinde analiz kolaylıkla yapılabilir
 ATP: Adenozin trifosfat, PPI: Pirofosfat, ADP: Adenozin difosfat, dGTP: Deoksiguanozin trifosfat, dATP: Deoksiadenozin trifosfat, dCTP: Deoksisisitidin trifosfat



Şekil 3. A) Homozigot WT (normal) örnek, B) Homozigot mutant örnek, C) Heterozigot örnek

Tablo 2. a. <18 yaş olgu grubunun sahip olduğu mutasyon bölgelerine göre dağılımı

n=246	%	Mutasyon
109	44,3	M694V
76	30,9	E148Q
16	6,5	M680I (G>C)
15	6,1	P369S
10	4,1	R761H
7	2,8	V726A
5	2,0	A744S
3	1,2	K695R
2	0,8	M694I
2	0,8	F479L
1	0,4	M680I (G>A)

Tablo 2. b. >18 yaş olgu grubunun sahip olduğu mutasyon bölgelerine göre dağılımı

n=351	%	Mutasyon
183	52,1	M694V
60	17,1	E148Q
37	10,5	M680I (G>C)
16	4,6	P369S
7	2,0	R761H
29	8,3	V726A
6	1,7	A744S
9	2,6	K695R
3	0,9	F479L
1	0,3	V722M

yaş gruplarına göre ayrılarak gruplandırıldı ve mutasyon bölgelerine göre bu olguların dağılımları Tablo 3a, b ve Tablo 4a, b'de gösterilmektedir. Tüm olguların 1180 tanesinde aile hikayesi bulgusu olmadığı, 200 tanesinde ise birinci derece yakınlarında mutasyon bulunduğu tespit edildi.

Tartışma

AAA tanısı klinik bulgular ve hasta izlemiyle konur. Tanının konulabilmesi için hastanın mutlaka atak döneminde ve ataksız dönemde değerlendirilmesi gerekir. AAA'da görülen belirlenmiş klasik bulguların yanı sıra hastalarda sık olmasa da bazen tanıya götürebilecek spesifik bulgular görülebilir. Bu bulgular skrotal enflamasyon, kas sisteminin tutulumu, nörolojik belirtiler, splenomegali olarak sayılabilir. Hastalığın semptomatik olduğu dönem "atak" olarak adlandırılır. Hastalar atak aralarında kendilerini tamamen iyi hissederler ve bu özellik tanı için önemlidir. Yapılan çalışmalar hastalığın klinik özelliklerinin farklı etnik gruplarda önemli farklar göstermediğini belirlemiştir. Ancak Türklerde hastalığın daha ağır seyrettiği ve amiloidoz gelişme riskinin daha yüksek olduğu çeşitli yayınlarda vurgulanmıştır. AAA'lı hastalarda görülen renal tutulumun en iyi bilinen şekli amiloidozdur. Fakat son yıllarda ülkemizden çeşitli araştırmacıların da bulunduğu birçok yayın ile AAA'da amiloid dışı glomerüler patolojiler görüldüğü bildirilmiştir.

Bugüne kadar yapılmış olan birçok çalışmada Türklerde M694V mutasyonunun en sık görülen mutasyon olduğu gösterilmiştir. 2005 yılında Türk AAA Çalışma Grubu (AAA-TR) tarafından yayınlanmış olan bir makalede 2838 hastanın verileri analiz edilmiş ve M694V frekansı (%51,4), M680I frekansı (%14,4) ve V726A frekansı (%8,6) olarak rapor edilmiştir (12). Biz de bu çalışmada AAA-TR grubunun bulunduğu sonuçların benzeri olarak M694V frekansını (%48,3), V726A frekansını (%5,0) olarak tespit ettik. 2001 yılında Yılmaz ve ark. (13) tarafından yayımlanan makalede, Türk AAA hastalarında *MEFV* geni üzerinde en sık görülen mutasyonlar M694V, M680I, E148Q, V726A ve M694I olarak ve bunların yüzdeleri de sırasıyla %51,55, %9,22, %3,55, %2,88, %0,44 olarak bildirilmiştir. Akar ve ark. (14) tarafından yapılan bir çalışmada AAA tanısı almış olan 230 hastada M694V, M680I, V726A, M694I, E148Q, R761H, K695R mutasyonlarının sıklık sırasına göre M694V %44, M680I %12, V726A %11, M694I %3 olduğu tespit edilmiştir. E148Q, R761H, K695R mutasyonlarının ise oldukça az sayıda hastada saptandığı bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da hem AAA-TR grubunun elde ettiği sonuçlara hem de Akar ve ark. (14) tarafından bildirilen sonuçlara benzer veriler elde edilmiş olmakla birlikte ikili ve üçlü mutasyonların birlikteliği ile elde edilen bulgular ilk kez ortaya konmaktadır. Farklı etnik gruplarda olan

AAA hastalarında yapılan çalışmalar homozigot M694V mutasyonunun tam penetrens ve yüksek amiloid riski taşıdığı belirtilmektedir. Aynı mutasyonun Ermeni ve Yahudilerde hastalığın kötü prognozu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (15-19). AAA-TR çalışma grubu; hastaları taşıdıkları mutasyonlara göre dört gruba (M694V için homozigot, M680I için homozigot, bileşik heterozigotlar ve M694V mutasyonu taşımayan hastalar) ayırarak fenotip-genotip ilişkisini analiz etmiş, bunun sonucunda M694V için homozigot olan bireylerde, hastalığın daha erken yaşta ortaya çıktığı ve artrit ve artraljinin daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır (sırasıyla, $p<0,001$ ve $p<0,001$) (12). Bizim çalışmamızda da 44 olgunun M694V için homozigot olduğu tespit edildi. Bu olguların 23'ü <18 yaş, 21'i >18 yaş grubunda idi. Bu sonuç hastalığın ortaya çıkma yaşı bakımından AAA-TR grubunun sonucuyla da uyumaktadır. Birleşik heterozigot olan 42 olgu tespit edildi. Bu olguların 13'ü <18 yaş ve 29'u >18 yaş grubundaydı. Kompleks allel mutasyonlarının ele alındığı ve literatürde üçlü mutasyona sahip bir olgunun işlendiği tek yaygın 2015 yılında Salehzadeh ve Fathi (20)

tarafından yayımlanmıştır. Çocukluk çağındaki bu hastada E148Q, V726A ve R761H mutasyonları tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu üç mutasyona sahip olan bir yetişkin hasta tespit edildi. Ancak bunun dışında bir tane E148Q, M694V ve A744S mutasyonu bir tane de E148Q, M694V ve R761H mutasyonu taşıyan olmak üzere toplam üç yetişkin hasta tespit edildi. Olgularımız arasında üçlü mutasyona sahip tek bir çocukluk çağı hastası vardı ve bu olguda saptanan mutasyonlar G678E, M680I (G/C), V726A olup Salehzadeh ve Fathi (20) tarafından tanımlanan olgudaki mutasyonlardan farklıdır. Çalışmamızda her iki grupta da varlığına bakılarak V726A mutasyonunun tüm yaş gruplarına özgü olduğu, M680I (G/C) ve M694V mutasyonlarının hem ikili mutasyon görülen hastalarda hem de üçlü mutasyon görülen olgularda birlikteliği dikkat çekmektedir. Bu iki mutasyondan sonra en sık V726 mutasyonu görülmektedir. Burada dikkat çeken mutasyon olarak G678E mutasyonu ortaya çıkmaktadır. Altı yaşında bir hastada tespit edilmiş olan bu mutasyon diğer iki

n=59	%	İkili mutasyon
<18 yaş		
7	11,9	E148Q, M694V
2	3,4	E148Q, P369S
1	1,7	E148Q, K695R
2	3,4	E148Q, R761H
3	5,1	E148Q, M680I (G/C)
1	1,7	P369S, M694V
1	1,7	P369S, M680I (G/C)
1	1,7	F479L, V726A
1	1,7	M680I (G/A), M680I (G/C)
14	23,7	M680I (G/C), M694V
1	1,7	M680I (G/C), K695R
6	10,2	M680I (G/C), V726A
1	1,7	M694V, M694I
1	1,7	M694V, K695R
8	13,6	M694V, V726A
4	6,8	M694V, R761H
1	1,7	V726A, K695R
3	5,1	V726A, R761H
1	1,7	M680I G/C, A744S

n=130	%	İkili mutasyon
>18 yaş		
20	15,4	E148Q, M694V
11	8,5	E148Q, P369S
1	0,8	E148Q, M964I
4	3,1	E148Q, V726A
1	0,8	E148Q, A744S
4	3,1	E148Q, M680I (G/C)
3	2,3	P369S, M694V
1	0,8	P369S, R717S
34	26,2	M680I (G/C), M694V
1	0,8	M680I (G/C), M694I
1	0,8	M680I (G/C), K695R
9	6,9	M680I (G/C), V726A
2	1,5	M680I (G/C), R761H
3	2,3	M694V, M694I
1	0,8	M694V, K695R
1	0,8	M694V, I720M
29	22,3	M694V, V726A
1	0,8	V726A, K695R
1	0,8	V726A, R761H
1	0,8	M694V, K695M
1	0,8	M694I, V726A

Tablo 4. a. >18 yaş olgu grubu için üçlü mutasyonlara göre dağılım		
n=3	%	Üçlü mutasyon
>18 yaş		
1	33	E148Q, M694V, A744S
1	33	E148Q, M694V, R761H
1	33	E148Q, V726A, R761H

Tablo 4. b. <18 yaş olgu grubu için üçlü mutasyonlara göre dağılım		
n=1	%	Üçlü mutasyon
<18 yaş		
1	100	G678E, M680I (G/C), V726A

mutasyonla birlikte literatürde ilk defa bizim çalışmamızda yer almaktadır. Bu mutasyon ile ilgili olarak pyrin proteininin fonksiyonunu etkileyebileceğini düşünmekteyiz. Pyrin proteininin, bulunduğu hücreye göre farklı proteinlerle etkileşime girerek, farklı fonksiyonları yerine getirebildiği bilinmektedir (4). Bununla birlikte AAA tanısının halen klinik olarak konulmakta olduğu ve hastalık için çeşitli tanı kriterleri geliştirilmekle beraber en yaygın olarak Tel-Hashomer Kriterlerinin kullanıldığı bilinmektedir (1). Genetik testlerin ise %75 oranda pozitif prediktif etkiye sahip olmakla beraber tanı koymada şart olmadığı ve bu duruma gerekçe olarak da hastaların %5-10 kadarında bilinen mutasyonlardan hiçbirinin saptanmadığı ifade edilmektedir. Yani mutasyonun olmaması hastalığın olmadığı anlamına gelmemektedir. Mutasyonlar prognozun belirlenmesinde önemli olabilmektedir (9,21). Bugün birçok hastalık ya da mutasyon ve benzeri genetik değişikliklerin hem tanı hem de prognozun öngörülmesinde yadsınmaz bir değere sahip olduğu bilinmektedir. Özellikle kişiselleştirilmiş tedaviler göz önüne alındığında eldeki genetik ve demografik verilerin birleştirilmesi ile hassas tıp alanında bir çığır açılacağı aşikardır. Bu da ancak eldeki verilerin çoğalmasında ve çeşitli analiz metodları ile birleştirilerek kişiye özgü tedavi protokollerinin geliştirilmesi ile gerçekleşebilir. Bu noktada hastaların mutasyona sahip olmamaları kadar taşıdıkları mutasyonlar ve bu mutasyonların birlikteliğinin ortaya konması da hedefe yönelik tedavi uygulamaları için çok önemlidir. Son zamanlarda tüm dikkatler genotip çalışmalarına yöneltilmiştir. Yukarıda sözü edilen dört yaygın mutasyon hastaların %80-85'inde bulunmaktadır. Şüphelenilen bir hastada bu mutasyonların bileşik heterozigot ya da homozigot olarak bulunması tanı lehine kabul edilmektedir. Ayrıca toplumdaki taşıyıcılık oranının yüksek olması genetik verilerin yanıltıcı öngörülerini dışlama noktasındaki önemini bir kez daha ortaya koymaktadır (22).

Çalışma Kısıtlılıkları

Çalışmamızda FMF ön tanılı hastalarda tanımlanmış olan mutasyon bölgeleri incelendi. Olası *de novo* mutasyonların tespiti için bütçe bulunmadığı için herhangi bir işlem yapılmadı.

Sonuç

Sonuç olarak hastalığın ilk tanımlandığı dönemlerden beri klinik bulguların ağırlığının etnik farklılıkla ilişkili olduğu bilinmektedir. Mutasyonların gösterilmesi ile enflamasyon ve bağışıklık sisteminin moleküler mekanizmalarının ortaya konması ve hastalık patofizyolojisinin tam olarak anlaşılabilmesinin yanı sıra nadir görüldüğü bilinen otoenflamatuvar hastalıkların ve bu sistemlere bağlı ve sık görülen genetik temelli hastalıkların da tanı ve tedavileri açısından açıklayıcı olacaktır. Ayrıca kompleks allel mutasyonlarının ve yaş dönemine göre bu mutasyonların birlikteliği de yine fonksiyon çalışmaları ile üzerinde durulması gereken, literatürde yeterli verinin bulunmadığı bir diğer önemli husustur. Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında özellikle üçlü mutasyona sahip olguların taşıdığı mutasyonların hastalık oluşumuna olan katkısının fonksiyon çalışmaları ile ortaya konacağı kanaatindeyiz.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (no: 2014/929).

Hasta Onayı: Hasta onayı alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: A.G., Ş.P., Ş.Ö., A.P. Konsept: Ş.P., E.C. Dizayn: E.C., Ş.P. Veri Toplama ve İşleme: D.Ö., A.Ö., A.P. Analiz ve Yorumlama: E.C., K.Ç., A.G. Literatür Tarama: E.C., Ş.Ö. Yazan: E.C.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997;40:1879-85.
2. Saito M, Nishikomori R, Kambe N. Familial Mediterranean fever: MEFV gene mutations and treatment. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2007;30:78-85.
3. Ong FS, Vakil H, Xue Y, et al. The M694V mutation in Armenian-Americans: a 10-year retrospective study of MEFV mutation testing for familial Mediterranean fever at UCLA. *Clin Genet* 2013;84:55-9.

4. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, et al. Fire and ICE: the role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20:45-53.
5. Available from: URL:<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/> Last update 2014/10/29
6. Masters SL, Lagou V, Jéru I, et al. Familial autoinflammation with neutrophilic dermatosis reveals a regulatory mechanism of pyrin activation. *Sci Transl Med* 2016;8:332ra45.
7. Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cell* 2003;11:591-604.
8. Grandemange S, Aksentijevich I, Jeru I, Gul A, Touitou I. The regulation of MEFV expression and its role in health and familial Mediterranean fever. *Genes Immun* 2011;12:497-503.
9. Ugan Y, Ermiş F, Şahin M. Ailesel Akdeniz Ateşi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg* 2011;18:139-43.
10. Ozen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, et al. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol* 1998;25:2445-9.
11. Peynircioğlu B, Yılmaz E. Ailevi akdeniz ateşi hastalığının moleküler temeli *Hacettepe Tıp Dergisi* 2006;37:223-9.
12. Tunca M, Akar S, Onen F, et al; Turkish FMF Study Group. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine (Baltimore)* 2005;84:1-11.
13. Yılmaz 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;9:553-5.
14. Akar N, Yalçınkaya F, Akar E, Cakar N. MEFV mutation analysis in Turkish familial Mediterranean fever patients with amyloidosis. *Amyloid* 1999;6:301-2.
15. Yalçınkaya F, Cakar N, Misirlioğlu M, et al. Genotype-phenotype correlation in a large group of Turkish patients with familial mediterranean fever: evidence for mutation-independent amyloidosis. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:67-72.
16. Brik R, Shinawi M, Kepten I, Berant M, Gershoni-Baruch R. Familial Mediterranean fever: clinical and genetic characterization in a mixed pediatric population of Jewish and Arab patients. *Pediatrics* 1999;103:e70.
17. Dewalle M, Domingo C, Rozenbaum M, et al. Phenotype-genotype correlation in Jewish patients suffering from familial Mediterranean fever (FMF). *Eur J Hum Genet* 1998;6:95-7.
18. Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, et al. MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Amyloid* 1999;6:1-6.
19. Shohat M, Magal N, Shohat T, et al. Phenotype-genotype correlation in familial Mediterranean fever: evidence for an association between Met694Val and amyloidosis. *Eur J Hum Genet* 1999;7:287-92.
20. Salehzadeh F, Fathi A. Patient with FMF and Triple MEFV Gene Mutations. *Med Arch* 2015;69:269-70.
21. Fonnesu C, Cerquaglia C, Gioviale M, et al. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine* 2009;76:227-33.
22. Kasapçopur Ö, Arsoy N. Ailesel Akdeniz Ateşi ve diğer otoenflamatuar hastalıklar. *Türk Pediatri Arşivi* 2006;41:9-17.