

بررسی چهار موتاسیون شایع تب فامیلی مدیترانه‌ای در شمالغرب کشور

عباس کریمی^{۱*}، مرتضی جبارپور بنیادی^۲، محسن اسماعیلی^۳، سعید دستگیری^۴

^۱ مرکز تحقیقات بیماریهای اتوایمیون تاولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۲ مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۳ گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱ ۵۵۱۵۵۰۵۰ فکس: ۰۲۱ ۵۵۱۵۵۰۵۰ E-mail: abbas.karimi.p@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: تب فامیلی مدیترانه‌ای یک اختلال اتوزمال مغلوب بوده و از شایع‌ترین و شناخته شده‌ترین سندرم‌های تب‌های دوره‌ای است. بیماری بیشتر در میان یهودیان غیراشکنازی، اعراب، ترک‌ها و ارمنه شایع می‌باشد. با توجه به موقعیت جغرافیایی شمالغرب ایران و به لحاظ نزدیکی به دو جمعیت در خطر بالای FMF، یعنی ارمنستان و ترکیه، احتمال شیوع FMF در این ناحیه از ایران نامحتمل به نظر نمی‌رسد. هدف از این مطالعه برآورد میزان ناقلین جهش‌های شایع FMF در افراد سالم می‌باشد. نتایج حاصله می‌تواند برای تخمین شیوع بیماری بالقوه مفید باشد.

روش کار: به طور تصادفی ۲۰۰ نمونه فرد سالم غیر مبتلا به FMF از شمالغرب کشور انتخاب گردید. پس از اخذ رضایت‌نامه و خونگیری از این افراد استخراج DNA به عمل آمد. سپس با استفاده از تکنیک‌های PCR-ARMS و PCR-RFLP جهش‌های شایع مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۴۰۰ آلل مورد بررسی ۴۴ آلل موتانت برای جهش E148Q و ۷ آلل موتانت برای جهش V726A یافت گردید. برای دو جهش دیگر هیچ آلل موتانتی پیدا نشد. فراوانی آللی کل برای این ۴ جهش شایع ۰/۱۳۲۵ و میزان ناقلین ۲۳/۴٪ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه بیانگر این است که فرکانس آللی موتاسیون E148Q نسبت به سایر موتاسیون‌ها بیشتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: تب فامیلی مدیترانه‌ای؛ ژن *MEFV*؛ جهش‌های شایع؛ ایران

دریافت: ۹۰/۴/۲۳

پذیرش: ۹۰/۹/۲۸

مقدمه

اولین بار در سال ۱۹۴۵ دکتر شپارد سیگل^۱ آلرژیست آمریکایی در بیمارستان مانت ساینای^۲ واقع در نیویورک ۵ مورد بیمار مبتلا با دردهای شکمی و تب‌های راجعه با حرارت بدنی بیش از ۱۰۵ درجه فارنهایت را گزارش داد. وی اولین بار بیماری را سندرم خوش خیم پاروگسیمال نامید [۱]. این بیماران علاوه بر دردهای شکمی، درد ریه، سینه، درد

مفاصل را نیز داشتند. در ابتدا شپارد سیگل از دیدگاه خودش اظهار کرد که این علائم ناشی از آلرژی و مواد آلرژن می‌باشند. این اولین مقاله‌ای بود که درباره علائم بالینی آنچه که ما امروزه تب فامیلی مدیترانه‌ای (FMF)^۳ می‌نامیم منتشر شد [۱]. بعدها دکتر هوبارت ریمن^۴ و همکارانش اطلاعات زیادی را درباره علائم بالینی و مشخصه‌های تب‌ها، دردهای دوره‌ای و متناوب نظیر آنچه که دکتر شپارد سیگل

^۳ Familial Mediterranean Fever

^۴ Hobart Reimann

^۱ Sheppard Siegal

^۲ Mont Sinai

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Karimi A, Bonyadi M, Esmaeili M, Dastgiri S. Study of Four Common Mutations of Familial Mediterranean Fever in North-West of Iran. J Ardabil Univ Med Sci. 2012; 12(3): 292-302.(Full Text in Persian)

توصیف کرده بود، بدست آوردند [۲،۳]. علاوه بر علائم مشاهده شده فوق نشانه‌هایی نظیر نوترینی دوره‌ای، فلج‌های متناوب و هیدروآرتريت‌های متناوب نیز گزارش گردید. با تاسیس کشور فلسطین اشغالی و مهاجرت یهودیان از سایر نقاط به این کشور و با اخراج یهودیان از کشورهای عربی مشاهده شد که این بیماری عمدتاً در جمعیت‌های خاورمیانه و در سایر گروه‌ها به صورت تک گیر مشاهده می‌شود [۴]. تب فامیلی مدیترانه‌ای اختلال ژنتیکی است که به صورت اتوزمال مغلوب به ارث می‌رسد و جزء بیماری‌های خود التهابی و یکی از شایع‌ترین و شناخته شده‌ترین سندرم‌های تب‌های دوره‌ای است [۵]. نمای کلاسیک بیماری به صورت حملات راجعه تب می‌باشد، حملات تب معمولاً کوتاه بوده و حدود ۱ تا ۳ روز و حتی بیشتر نیز در جریان حمله‌های این بیماری دیده می‌شود. این حملات تب اغلب با دردهای ناشی از پریتونیت، پلوریت و یا سینوویت حاد مفاصل بزرگ همراه است [۶]. فرکانس این حملات از یک بار در هفته تا یک بار در دهه متغیر می‌باشد. شروع حملات بیماری اغلب در دوران کودکی است و در بیش از ۸۰٪ بیماران قبل از ۲۰ سالگی تظاهرات اولیه آن بروز می‌نماید و در موارد بسیار نادر بعد از ۴۰ سالگی اولین تظاهرات بیماری را نشان می‌دهند. در حدود نیمی از بیماران اولین تظاهر بیماری به صورت شکم درد است از سوی دیگر این حملات شکم درد به کرات باعث عمل‌های جراحی کاذب در این بیماران می‌شود. درگیری مفاصل به صورت آرتريت حاد همراه با گرمی، تورم و قرمزی مفاصل می‌باشد که در اکثر موارد به صورت تک مفصلی است [۷]. درد سینه تظاهر شایع بیماری است که اغلب یک طرفه است، مشابه شکم درد ناگهانی بوده و به سرعت تحلیل می‌رود. علائم جلدی مخاطی از قبیل ادم، آفت‌های دهانی نیز در طول حملات بیماری مشاهده می‌شود. دردهای عضلانی که اغلب خفیف و بیشتر با درگیری اندام‌های

تحتانی است. نیز از علائم این بیماری است. مهم‌ترین عارضه FMF که تهدید کننده حیات است، آمیلوئیدوزیس است که کلیه را درگیر نموده و منجر به نارسایی مزمن کلیه می‌شود که با رسوب آمیلوئید AA همراه است [۸].

این بیماری همانطور که از اسم بیماری پیداست، اکثراً چهار گروه نژادی ساکن حوزه‌ی اطراف دریای مدیترانه یعنی یهودیان، ترک‌ها، اعراب و ارامنه را درگیر می‌کند [۹]. شیوع بیماری ۱ در ۲۶۰۰ و ۱ در ۱۰۷۰ نفر در نژاد عرب و ترک گزارش شده است [۱۰]. فراوانی ناقلین در ترک‌ها ۲۷٪، در یهودیان آفریقای شمالی ۳۹٪، یهودیان اشکنازی ۲۱٪، در یهودیان ایرانی ۶٪، در اعراب ۱۹٪ و در ارامنه ۲۱٪ گزارش شده است [۱۱،۱۲]. ژن کد کننده بیماری MEFV^۱ نام داشته و بر روی بازوی بلند کروموزوم 16p.13.3 قرار دارد. این ژن از ۱۰ اگزون تشکیل یافته و پروتئینی به نام پیرین^۲ یا مارنستورین^۳ را کد می‌کند. این پروتئین به طور عمده در سیتوپلاسم نوتروفیل‌های بالغ و مونوسیت‌ها بیان می‌شود. به نظر می‌رسد که در فرایند التهاب و آپوپتوزیس نقش داشته باشد [۱۳]. تا به حال حدود ۱۲۰ جهش و پلی‌مورفیسم در این ژن گزارش شده است که ۵ جهش شایع M694I، M680I، M694V، V726A و E148Q در اکثر گروه‌های نژادی در حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد از مبتلایان یافت می‌شوند. جهش M694V شایع‌ترین جهش در اکثر گروه‌های نژادی است و هموزیگوتی برای این جهش یکی از فاکتورهای مهم در پیشروی آمیلوئیدوزیس است [۱۴]. M680I دومین موتاسیون شایع در میان ترک‌های آناتولی است. V726A دومین موتاسیون شایع در میان اعراب و یهودیان می‌باشد. موتاسیون M694I نیز شایع‌ترین موتاسیون در نژاد عرب می‌باشد.

^۱ Mediterranean Fever

^۲ Pyrin

^۳ Marenostin

موتاسیون E148Q با فرم خفیف بیماری همراه بوده و در اکثر گروه‌های نژادی در افراد سالم شیوع بیشتری دارد [۱۵]. با توجه به مطالعاتی که در شمالغرب کشور انجام شده است، این بیماری شیوع قابل توجهی در این ناحیه از ایران دارد [۱۴، ۱۶، ۱۷]. همچنین با توجه به نزدیکی شمالغرب کشور به کشورهای در خطر بالای FMF و قرابت نژادی بین شمالغرب کشور با ترکیه انتظار می‌رود FMF شیوع بالایی در این ناحیه از ایران داشته باشد. هدف از این بررسی برآورد میزان ناقلین جهش‌های شایع FMF در شمالغرب کشور می‌باشد. این نتایج می‌تواند جهت تخمین شیوع بیماری و اطلاع رسانی‌های بهتر و سریع‌تر در مورد بیماری و مقایسه نتایج حاصله با سایر کشورها بالقوه مفید باشد.

روش کار

این یک مطالعه توصیفی به صورت مقطعی^۱ می‌باشد. در این بررسی با توجه به اینکه هدف برآورد میزان ناقلین در شمال غرب کشور بود، بنابر پیشنهاد مشاور آماری و با توجه به اینکه در مطالعات مورد-شاهدی معمولاً به تعداد مورد ها شاهدها را انتخاب می‌کنند مگر اینکه شیوع بیماری خیلی پایین باشد و از آنجائیکه فاز اول این پروژه بر روی بیماران مبتلا (موارد) انجام شده بود طوری که محل سکونت این بیماران در شمالغرب کشور نیز مشخص شده بود از اینرو به تعداد افراد بیمار از شهرهای مختلف شمالغرب کشور به همان تعداد افراد سالمی که از نظر بیماری تب فامیلی مدیترانه‌ای و همچنین سندرم بهجت^۲ مبرا بودند انتخاب گردید. به جهت محدودیت در انتخاب نمونه از شهرهای مختلف از نمونه‌هایی خون بیماران مبتلا به کیستیک فیبروزیس، ناشنوایی، بتا تالاسمی، دیستروفی عضلانی دوشن^۳

استفاد گردید. قبل از نمونه‌گیری رضایت نامه آگاهانه از بیماران و والدین آنها جهت بررسی موتاسیون‌های تب فامیلی مدیترانه‌ای گرفته شد. لازم به ذکر است که نحوه نمونه‌گیری با توجه به مطالعات مشابه [۲۵] و بنابر پیشنهاد مشاور اپیدمیولوژی و آمار انتخاب گردید. به طور کلی تعداد ۲۰۰ نمونه کنترل سالم از سه استان آذربایجان شرقی، غربی و اردبیل برای آنالیز جهش‌های شایع انتخاب گردید. پس از تکمیل رضایت‌نامه و انجام عمل خونگیری به مقدار ۵ میلی‌لیتر، به منظور جلوگیری از لخته شدن خون ۲۰۰-۴۰۰ میکرو لیتر از EDTA ۰/۵ میلی مولار استفاده گردید. استخراج DNA از خون محیطی با روش نمک اشباع انجام شد [۱۴]، که مراحل آن به شرح زیر می‌باشد: پس از برداشت مقدار مناسب نمونه خونی، به منظور لیز گلبول‌های قرمز، سه برابر حجم خون اولیه بافر لیزکننده (۱۵۲ میلی‌مول کلرید آمونیوم و ۱۰ میلی‌مول بی‌کربنات سدیم و ۰/۱ میلی‌مول اتیلین‌دی‌آمین‌تترا استیک اسید EDTA) به خون اضافه و طی چند مرحله ۱۵ دقیقه‌ای، سانتریفوژ گردید. بعد از تشکیل رسوب سفید- صورتی رنگ و پس از اضافه کردن بافر SE (۱۷۵ میلی‌مول کلرید سدیم، ۶ میلی‌مول EDTA، pH بین ۸ تا ۸.۳)، دترجنت سدیم دودسیل سولفات ۱۰ درصد (SDS) و پروتئیناز K (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به رسوب حاصل، نمونه یک شبانه روز در بن ماری نگه داری شد. سپس نمک اشباع و کلروفرم به محلول اضافه شده و با دور ۳۵۰۰ به مدت یک ساعت سانتریفوژ گردید. محلول فاز بالایی حاوی DNA است که پس از جداسازی آن، به منظور ظهور کلاف DNA از الکل اتانول مطلق استفاده شد. کلاف DNA حاصل در اتانل ۷۰ درصد سرد شده و سپس در مقدار کافی آب مقطر اتوکلاو شده، حل گردیده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. به منظور بررسی جهش‌های M694V، M680I، M694I و V726A از

¹ Cross-Sectional

² Bahjat Disease

³ Spinal Muscular Atrophy

محاسبه گردید همچنین برآورد carrier rate از رابطه $\frac{2q}{1+q}$ استفاده گردید.

یافته‌ها

در این بررسی از تعداد ۴۰۰ آلل مورد بررسی در نتایج حاصله از تکنیک ARMS-PCR برای جهش‌های M680I و M694V هیچ آلل موتانتی بدست نیامد. برای جهش V726A با استفاده از این تکنیک ۷ آلل موتانت یافت گردید. همانطور که در شکل ۱ نیز مشاهده می‌گردد در افراد سالم برای این دو موتاسیون فقط باند مربوط به آلل نرمال در ژل مشاهده می‌گردد ولی در افراد هتروزیگوت برای این جهش هم باند مربوط به آلل نرمال و هم آلل موتانت مشاهده می‌گردد. در بررسی موتاسیون V726A نیز الگوی مشابهی مشاهده می‌شود (شکل ۲). در بررسی E148Q با تکنیک RFLP-PCR ۴۴ آلل موتانت یافت گردید. همانطور که در شکل ۳ نیز نشان داده شده است در اثر تیمار با آنزیم محدودالتر در افراد سالم قطعات هضم نشده از ناحیه تکثیر یافته ایجاد نمی‌گردد. در افراد هتروزیگوتی که حاوی جهش مورد نظر هستند در اثر هضم با این آنزیم دو قطعه ۶۴ و ۹۳ جفت بازی حاصل می‌گردد. در افراد هموزیگوت قطعه ۱۵۷ جفت بازی در باند الکتروفورزی مشاهده نمی‌گردد. در بررسی E148Q یک فرد هموزیگوت سالم بدون علائم بالینی مشاهده گردید که حدود ۰/۵٪ از نمونه‌های مورد بررسی را تشکیل می‌داد. روی هم رفته درصد هتروزیگوتی مشاهده شده برای این ۴ جهش شایع ۲۷ درصد گزارش گردید. فراوانی آللی مربوط به هر یک از موتاسیون‌ها، فراوانی آللی کلی و میزان ناقلین محاسبه شده در جدول ۲ آورده شده است.

تکنیک PCR-ARMS^۱ استفاده گردید لیست پرایمرها در جدول (۱) آورده شده است [۱۸-۲۰]. برای بررسی موتاسیون E148Q از تکنیک PCR-^۲ RFLP استفاده گردید [۱۸،۲۱].

برای انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از کلرید منیزیم (MgCl₂) با غلظت نهایی ۰/۷۵ میلی‌مولار، بافر PCR (کلرید پتاسیم ۵۰۰ میلی‌مولار، تریس اسید کلریدریک ۲۰۰ میلی‌مولار با pH برابر ۸) با غلظت یک برابر، یک واحد آنزیم تک پلیمراز (شرکت سیناژن)، دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs) با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و آب دوبار تقطیر استفاده گردید. برنامه اجرا شده برای تکثیر جهش‌ها و توالی پرایمرها همانند مطالعاتی که انجام شده، استفاده گردید [۱۴]. اندازه محصولات PCR برای جهش‌های مورد استفاده به قرار زیر بود: M694V به طول ۲۱۲، M680I به طول ۲۲۰، V726A به طول ۲۴۷ جفت باز بود. محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۳ درصد با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد. برای شناسایی E148Q از ژل پلی‌اکریل آمید استفاده گردید به این صورت که پس از انجام یک چک PCR و پس از تیمار با آنزیم محدودالتر MvaI، محصولات برش یافته بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ الکتروفورز گردید. در اثر تیمار با این آنزیم در افراد سالم قطعات هضم نشده از ناحیه تکثیر یافته ایجاد نمی‌گردد.

در این مطالعه توصیفی با توجه به اینکه آنالیزها فقط بر روی یک گروه یا به عبارت بهتر بر روی گروه کنترل یا سالم صورت می‌گیرد، نیازی به کارهای آماری نمی‌باشد فقط برای محاسبه فاصله اطمینان در موتاسیون‌ها از نرم افزار Confidence Interval Analysis استفاده گردید. فرکانس آللی از تقسیم آلل‌های موتانت بر مجموع آلل‌های بررسی شده

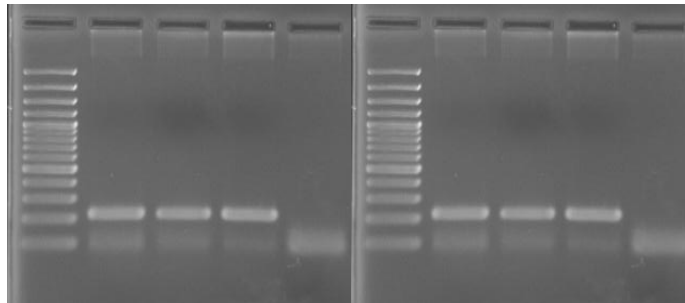
^۱ Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR)

^۲ Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphisms

الف

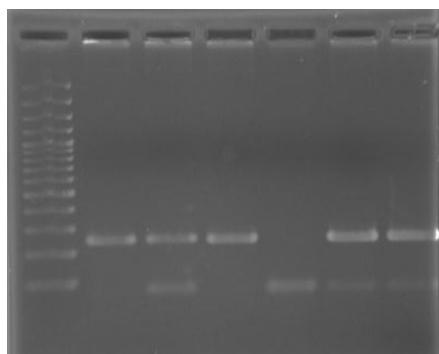
پ

L 1 2 3 4 W L 1 2 3 4 W

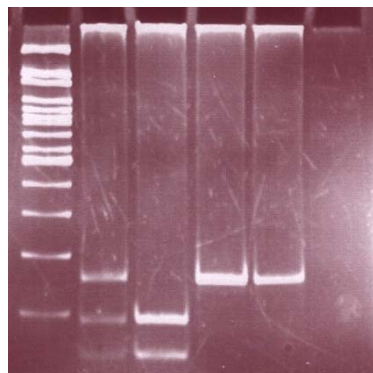


شکل ۱. نتایج ARMS-PCR (الف) برای موتاسیون M694V (ب) بر روی ژل آگاروز ۲٪. در هر ARMS-PCR یک ستون N مربوط به تکثیر آلل نرمال و یک ستون M مربوط به تکثیر آلل موتانت وجود دارد. Line ۱: نشانگر اندازه (مارکر) را نشان می‌دهد. Line ۲: آلل نرمال یک فرد هتروزیگوت با اندازه‌ای به طول ۲۱۲bp را نشان می‌دهد. Line ۳: آلل موتانت تکثیر یافته یک فرد هتروزیگوت دارای طولی به اندازه ۲۱۲ جفت باز را نشان می‌دهد. Line ۴ و ۵ نیز به ترتیب آلل تکثیر یافته نرمال و آلل آمپلی فای نشده یک فرد سالم را نشان می‌دهد. شکل ۱-ب همانند ۱-الف بوده ولی برای موتاسیون M680I می‌باشد.

١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧



شکل ۲. نتایج ARMS-PCR برای موتاسیون V726A بر روی ژل آگاروز ۲٪. Line ۱: نشانگر اندازه (مارکر) را نشان می‌دهد. Line ۲: آلل نرمال یک فرد هتروزیگوت با اندازه‌ای به طول ۲۴۷bp را نشان می‌دهد. Line ۳: آلل موتانت تکثیر یافته یک فرد هتروزیگوت دارای طولی به اندازه ۲۴۷bp را نشان می‌دهد. Line ۴ و ۵ نیز به ترتیب آلل تکثیر یافته نرمال و آلل موتانت آمپلی‌فای نشده یک فرد سالم را نشان می‌دهد. Line های ۶ و ۷ نیز آلل‌های تکثیر داده شده موتانت و نرمال یک فرد هتروزیگوت سالم را نشان می‌دهد.



شکل ۳. محصولات برش یافته با آنزیم محدود الاثر برای موتاسیون E148Q بر روی ژل آکریل آمید ۸٪. آللهای موتانت دارای محل برش این آنزیم بوده و پس از برش به باند‌های ۹۳bp و ۶۴bp تبدیل می‌شوند. فرد یک برای این جیش هتروزیگوت بوده و فرد ۲ برای این جیش هموزیگوت می‌باشد. افراد ۳ و ۴ به ترتیب یک فرد منفی برای این جیش و یک فرد سالم می‌باشند. W کنترل منفی آب مقطر و L مارکر ۱۰۰bp می‌باشد.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR برای تب فامیلی مدیترانه ای

پرایمر	نوع جهش	
M694 V	Common	5'-TATCATTGTTCTGGGCTC-3'
	Mutant	5'-TGGTACTCATTTCCTTCAC-3'
	Normal	5'-TGGTACTCATTTCCTTCAT-3'
M680 I	Common	5'- GGAAACAAGTGGGAGAGGCTGC-3'
	Mutant	5'- GTAGCCATTCTCTAGCGACAGTGCC-3'
	Normal	5'- GTAGCCATTCTCTAGCGACAGTGCG-3'
V726A	Common	5'- TTGGAGACAAGACAGCATGGATCC-3'
	Mutant	5'- GTCACATTGTAAAAGGAGATGCTTGCTG-3'
	Normal	5'-CTGTCACATTGTAAAAGGAGATGCTTGCTA-3
	Forward	5'- AACTTTAATATCCAAGGGGATTTC-3'
E148Q	Reverse	5'-TTCTCTGCAGCCGATATAAAGTA-3'

جدول ۲. فراوانی آللی محاسبه شده با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای هر کدام از جهش‌ها و میزان ناقلین محاسبه شده برای کلیه جهش‌ها

کل	E148Q	M680I	V726A	M694V	موتاسیون
۰/۱۳۲۵	۰/۱۱۵	۰	۰/۰۱۷۵	۰	فراوانی آللی یا موتاسیونی
۰/۸۶۷۵	۰/۸۸۵	۱	۰/۹۸۲۵	۱	فراوانی آلل نوع وحشی
(۰/۰۹۹۳-۰/۱۶۶)	(۰/۰۸۳۷-۰/۱۴۶۳)	۰	(۰/۰۰۴۶-۰/۰۳۰۴)	۰	فاصله اطمینان [CI]
۵۲	۴۴	۰	۷	۰	تعداد هتروزیگوت های مشاهده
۲۳/۴					میزان ناقلین محاسبه شده برای کل جهش‌ها

جدول ۳. میزان ناقلین محاسبه شده در جمعیت‌های مطالعه شده و مقایسه آن با جمعیت حاضر

ایران	کرت (یونان) ^۱	ترکیه	ترکیه ^۲	لبنان	عربستان	عراق	اردن	سوریه	مصر	کشور
۴۰۰	۳۱۶	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۱۴	۳۵۲	۴۰۰	۴۵۰	۴۶۲	تعداد آلل‌های مورد بررسی
۰	۰	۳	۸	۰	۰	۰	۱۳	۶	۲	M694V
-	۰	۰	۰	۴	۰	۰	۰	۲	۴	M694I
۷	۲	۲	۴	۸	۱	۹	۱۴	۱۱	۸	V726A
۴۶	۹	۱۲	۷	۱۰	۱۲	۲۹	۲۳	۳۲	۲۹	E148Q
۰	-	۵	۵	۱	۰	۰	۱	۰	۰	M680I
۰/۱۳۲۵	۰/۰۵۶	۰/۱۱	۰/۱۳۵	۰/۰۹۵	۰/۰۶۱	۰/۱۰۸	۰/۱۳۲	۰/۰۹۷	۰/۰۹۳	فراوانی آللی
۲۳/۴	۱۰	۲۰	۲۴	۱۷/۲	۱۱/۴	۱۹/۳	۲۳	۱۷/۵	۱۶/۹	میزان ناقلین محاسبه شده
۵۲	۱۸	۲۰	۲۷	-	۱۳	۳۸	۳۷	۴۲	۴۲	تعداد هتروزیگوت‌های مشاهده شده

۱. در این بررسی سه جهش P369S، دو جهش A744S و دو جهش K695R در میزان ناقلین نیز محسوب شده است.

۲. در این بررسی دو نفر برای جهش K695R و یک نفر برای P369S آللهای جهش یافته داشتند.

بحث

تب فامیلی مدیترانه‌ای یک بیماری اتوزمال مغلوب است که اکثراً چهار جمعیت اطراف دریای مدیترانه را درگیر می‌کند. شیوع این بیماری با افزایش مهاجرت‌ها به سایر نقاط جهان بیشتر شده است [۲۲]. با توجه به اینکه کشور ایران در موقعیت سوق الجیشی خاورمیانه قرار گرفته است و به نوعی با

چهار جمعیت مدیترانه‌ای در ارتباط است، و حدود ۲۵ میلیون ترک آذری در ایران زندگی می‌کنند، احتمال شیوع تب فامیلی مدیترانه‌ای در ایران (مخصوصاً شمال غرب ایران به خاطر ترک نشین بودن) نامحتمل به نظر نمی‌رسد [۲۶-۲۳، ۱۷، ۱۶، ۱۴، ۱۳]. در این بررسی میزان ناقلین ۲۳/۴ درصد و فرکانس آللی برای این چهار موتاسیون شایع از ۲۰۰ نمونه‌ای

که به طور تصادفی انتخاب شده بودند ۰/۱۳۲۵ بدست آمد که با فاصله اطمینان ۹۵ درصد فرکانس آلی (۰/۱۶۶-۰/۰۹۹۳) برای جامعه قابل تعمیم می باشد. با توجه به این داده‌ها انتظار می‌رود از هر ۱۰۰۰ نفر حداقل ۱۷ نفر مبتلا به این بیماری باشند، ولی از آنجائیکه شایعترین موتاسیون شناسایی شده در این مطالعه با فرم خفیف بیماری همراه می‌باشد به همین خاطر بسیاری مبتلایان از بیماری خود آگاه نیستند. این نتایج همانند نتایجی که در کشورهای حاشیه دریای مدیترانه بدست آمده است، حاکی از شیوع بالای تب فامیلی مدیترانه‌ای در این ناحیه از ایران است [۲۵]. در جدول [۳] نتایج حاصله از این مطالعه با مطالعاتی که در سایر کشورها صورت گرفته است مقایسه شده است. همانطور که از جدول مشاهده می‌گردد، جمعیت شمال غرب ایران یک جمعیت در معرض خطر بالای تب فامیلی مدیترانه‌ای با میزان ناقلین ۲۳ درصد می‌باشد [۹، ۲۷، ۲۸].

در کشورهای عراق و عربستان همانند جمعیت مورد مطالعه ما هیچ آلل موتانتی برای سه M694V، M680I و M694I جهش یافت نشده است [۹]. نتایج حاصله از بررسی‌هایی که در یهودیان آفریقای شمالی، ارمنه و ترک‌ها انجام شده است نشان از شیوع بالای M694V، V726A و M680I در این کشورها است. در این بررسی فراوانی آللی V726A را ۰/۰۱۷۵ و فراوانی آللی E148Q را ۰/۱۱۵ برآورد کردیم. E148Q در جمعیت‌های متفاوت از لحاظ فنوتیپی و جغرافیایی مشاهده می‌شود؛ نتیجتاً با توجه به اختلاف فاحش فراوانی این جهش در بین مبتلایان و افراد سالم تصور می‌رود به عنوان یک پلی‌مورفیسم باشد تا یک جهش بیمارزا باشد [۲۹]. هموزیگوتی برای این جهش برای پیشرفت بیماری کافی نیست، به علاوه هموزیگوتی برای این جهش ممکن است استعداد ابتلا به بیماری‌های پلی‌ژنیک نظیر بیماری بهجت و آمیلوئیدوزیس AA در مبتلایان غیر تب فامیلی مدیترانه‌ای (با سندرم‌های

دوره‌ای) بیشتر گردد [۳۰، ۳۱]. پس نمی‌توان شیوع بالای این جهش را در این ناحیه از ایران نادیده گرفت. در این بررسی از میان ۲۰۰ نمونه، یک فرد هموزیگوت سالم نیز بدست آمد. لازم به ذکر است افرادی سالمی که هر دو آلل جهش یافته تب فامیلی مدیترانه‌ای را به صورت هتروزیگوت مرکب یا هموزیگوت داشته باشند، افراد فنوتیپ III بیماری نامیده می‌شوند [۳۲]. همانطور که ملاحظه می‌گردد ۰/۵ درصد از افراد تشکیل دهنده جمعیت آماری ما را افراد هموزیگوت تشکیل می‌دهند. از دلایل اینکه افراد هموزیگوت در این مطالعه در حد انتظار ظاهر نشده است، می‌تواند به خاطر تعداد کم نمونه‌های انتخاب شده، هتروژن بودن جمعیت آماری از ۳ استان متفاوت، آرایش پیچیده ژنتیکی منطقه، و کم بودن ازدواج‌های فامیلی در منطقه باشد. در کل بایستی متذکر شد که میزان ناقلین واقعی، بیشک خیلی بیشتر از میزان ناقلینی که ما بدست آوردیم، می‌باشد. به خاطر اینکه از میان ۷۰ موتاسیونی که برای ژن پیرین تا به حال شناسایی شده، ما تنها ۴ موتاسیون را بررسی کردیم. همانطور که اسماعیلی و همکارانش نشان داده‌اند این ۵ جهش شایع تنها در ۵۰ تا ۶۰٪ مبتلایان یافت شده است، بیشک با تعیین توالی کامل ژن پیرین میزان ناقلین خیلی بیشتر از این مقدار خواهد بود. همچنین این میزان ناقلین بالا پدیده‌ای نظیر آنچه که در بیماری مالاریا مشاهده می‌شود، پیشنهاد می‌کند که ناقلین احتمالاً از یک برتری هتروزیگوتی بر علیه بیماری‌های نظیر توبرکلوزیس، اپیدمی‌های آبله و یا طاعون، تیغوس اگزانتمانیک و مالاریا که در تاریخچه حاشیه دریای مدیترانه بهتر شناخته شده‌اند، برخوردار هستند [۳۲-۳۹].

نتیجه‌گیری

در این مطالعه میزان ناقلین برای ۵ جهش شایع تب فامیلی مدیترانه‌ای ۲۳/۴ درصد گزارش گردید، در

هر صورت میزان ناقلین واقعی با توجه تعداد جهش‌های زیاد موجود در این ژن، بیشتر از این میزان می‌باشد و همانند جمعیت‌های حاشیه دریای مدیترانه جمعیت شمالغرب ایران یک جمعیت در معرض خطر بالای تب فامیلی مدیترانه‌ای است.

تشکر و قدردانی

مولفین از همکاران دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان امام خمینی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و جناب آقای دکتر محمد حسین صومی ریاست محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی تبریز کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

- 1- Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Gastroenterology*. 1949 Feb;12(2):234-47.
- 2- Reimann HA. Periodic disease; a probable syndrome including periodic fever, benign paroxysmal peritonitis, cyclic neutropenia and intermittent arthralgia. *J Am Med Assoc*. 1948 Jan 24;136(4):239-44.
- 3- Reimann HA. Familial Mediterranean fever. *Br Med J*. 1968 May; 2(5600):298-9.
- 4- 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 Aug; 43(2): 53-227.
- 5- Ureten K, Bostanci A, Akbal E, Gonulalan G, Ozbek M, Ozturk MA. Familial Mediterranean Fever with chronic ascites: a case report and a review of literature. *Rheumatol Int*. 2009 Oct; 29(12): 1477-80.
- 6- Manna R, Cerquaglia C, Curigliano V, Fonnesu C, Gioviale M, Verrecchia E, et al. Clinical features of Familial Mediterranean Fever: an Italian overview. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2009 Mar; 13 Suppl 1:51-3.
- 7- Fonnesu C, Cerquaglia C, Gioviale M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, et al. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint Bone Spine*. 2009 May;76(3):227-33.
- 8- Larrimore C. Chronic Familial Mediterranean Fever with development of secondary amyloidosis. *Clin Lab Sci*. Winter; 24(1):2-7.
- 9- El-Shanti H, Majeed HA, El-Khateeb M. Familial Mediterranean Fever in Arabs. *Lancet*. 2006 Mar 25; 367(9515):1016-24.
- 10- Onen F. Familial Mediterranean Fever. *Rheumatol Int*. 2006 Apr; 26(6):489-96.
- 11- Yigit S, Bagci H, Ozkaya O, Ozdamar K, Cengiz K, Akpolat T. MEFV mutations in patients with Familial Mediterranean Fever in the Black Sea region of Turkey: Samsun experience. *J Rheumatol*. 2008 Jan; 35(1):106-13.
- 12- Aksentijevich I, Torosyan Y, Samuels J, Centola M, Pras E, Chae JJ, et al. Mutation and haplotype studies of Familial Mediterranean Fever reveal new ancestral relationships and evidence for a high carrier frequency with reduced penetrance in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Hum Genet*. 1999 Apr; 64(4):949-62.
- 13- Shinar Y, Kuchuk I, Menasherow S, Kolet M, Lidar M, Langevitz P, et al. Unique spectrum of MEFV mutations in Iranian Jewish FMF patients--clinical and demographic significance. *Rheumatology [Oxford]*. 2007 Nov; 46(11):1718-22.
- 14- Esmaeili M, Bonyadi M, Rafeey M, Sakha K, Somi MH. Common MEFV mutation analysis in Iranian Azeri Turkish patients with Familial Mediterranean Fever. *Semin Arthritis Rheum*. 2008 Apr; 37(5):334-8.
- 15- Jalkh N, Genin E, Chouery E, Delague V, Medlej-Hashim M, Idrac CA, et al. Familial Mediterranean Fever in Lebanon: founder effects for different MEFV mutations. *Ann Hum Genet*. 2008 Jan; 72(Pt 1): 41-7.

- 16- Esmaeili M, Bonyadi M, Khabbazi A, Ebrahimi A, Sharif SK, Hajialilo M, et al. Common MEFV mutations in Iranian Azeri Turkish patients with Behcet's disease. *Scand J Rheumatol*. 2011 May; 40 (5): 383-6.
- 17- Bonyadi M, Esmaeili M, Jalali H, Somi MH, Ghaffari A, Rafeey M, et al. MEFV mutations in Iranian Azeri Turkish patients with familial Mediterranean fever. *Clin Genet*. 2009 Nov; 76(5):477-80.
- 18- Localization of the Familial Mediterranean Fever gene [FMF] to a 250-kb interval in non-Ashkenazi Jewish founder haplotypes. The French FMF Consortium. *Am J Hum Genet*. 1996 Sep; 59(3): 603-12.
- 19- Eisenberg S, Aksentijevich I, Deng Z, Kastner DL, Matzner Y. Diagnosis of Familial Mediterranean Fever by a molecular genetics method. *Ann Intern Med*. 1998 Oct 1; 129(7): 539-42.
- 20- Livneh A, Langevitz P, Shinar Y, Zaks N, Kastner DL, Pras M, et al. MEFV mutation analysis in patients suffering from amyloidosis of Familial Mediterranean Fever. *Amyloid*. 1999 Mar; 6(1): 1-6.
- 21- Medlej-Hashim M, Salem N, Chouery E, Rawashdeh M, Delague V, Haffar M, et al. Familial Mediterranean Fever: the potential for misdiagnosis of E148V using the E148Q usual RFLP detection method. *Clin Genet*. 2002 Jan; 61(1):71-3.
- 22- Bathelier C, Lenoir G, Lucotte G. Screening for the M694V mutation of the Familial Mediterranean Fever [FMF] gene in 604 French patients. *Genet Couns*. 2010; 21(4): 461-6.
- 23- Bidari A, Ghavidel-Parsa B, Najmabadi H, Talachian E, Haghighat-Shoar M, Broumand B, et al. Common MEFV mutation analysis in 36 Iranian patients with Familial Mediterranean Fever: clinical and demographic significance. *Mod Rheumatol*. 2010 Jun 15.
- 24- Salehzadeh F, Jahangiri S, Emami D, Shiari R. Familial Mediterranean Fever in Iranian children. First report from Iran. *Clin Exp Rheumatol*. 2010 Mar-Apr; 28(2):287.
- 25- Stoffman N, Magal N, Shohat T, Lotan R, Koman S, Oron A, et al. Higher than expected carrier rates for Familial Mediterranean Fever in various Jewish ethnic groups. *Eur J Hum Genet*. 2000 Apr; 8(4):307-10.
- 26- Salehzadeh F, Emami D, Zolfegari AA, Yazdanbod A, Habibzadeh S, Bashardost B, et al. Familial Mediterranean Fever in northwest of Iran [Ardabil]: the first global report from Iran. *Turk J Pediatr*. 2008 Jan-Feb; 50(1):40-4.
- 27- Majeed HA, El-Khateeb M, El-Shanti H, Rabaiha ZA, Tayeh M, Najib D. The spectrum of Familial Mediterranean Fever gene mutations in Arabs: report of a large series. *Semin Arthritis Rheum*. 2005 Jun; 34(6):813-8.
- 28- Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, et al. Mutation frequency of Familial Mediterranean Fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. *Eur J Hum Genet*. 2001 Jul; 9(7):553-5.
- 29- Ben-Chetrit E, Lerer I, Malamud E, Domingo C, Abeliovich D. The E148Q mutation in the MEFV gene: is it a disease-causing mutation or a sequence variant? *Hum Mutat*. 2000 Apr; 15(4): 385-6.
- 30- He X, Lu H, Kang S, Luan J, Liu Z, Yin W, et al. MEFV E148Q polymorphism is associated with Henoch-Schonlein purpura in Chinese children. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2010;25(10):2077-82.
- 31- Standing AS, Eleftheriou D, Lachmann HJ, Brogan PA. Comment on: Familial Mediterranean Fever caused by homozygous E148Q mutation complicated by Budd-Chiari syndrome and polyarteritis nodosa: reply. *Rheumatology [Oxford]*. 2011 Jul; 50(7):1349-50.
- 32- 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 Genet*. 2001 Aug 15; 102(3):272-6.
- 33- Cattani D. MEFV mutation carriers and diseases other than Familial Mediterranean Fever: proved and non-proved associations; putative biological advantage. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005 Feb; 4(1):105-12.
- 34- Fumagalli M, Cagliani R, Pozzoli U, Riva S, Comi GP, Menozzi G, et al. A population genetics study of the familial Mediterranean fever gene: evidence of balancing selection under an overdominance regime. *Genes Immun*. 2009 Dec; 10(8):678-86.
- 35- Yepiskoposyan L, Harutyunyan A. Population genetics of Familial Mediterranean Fever: a review. *Eur J Hum Genet*. 2007 Sep; 15 (9):911-6.
- 36- Sahin S, Sahin GM, Ergin H, Kantarci G. The effect of dialytic modalities on clinical outcomes in ESRD patients with Familial Mediterranean Fever. *Ren Fail*. 2007; 29(3):315-9.
- 37- Cattani D. Familial Mediterranean Fever: is low mortality from tuberculosis a specific advantage for MEFV mutations carriers? Mortality from tuberculosis among Muslims, Jewish, French, Italian and Maltese patients in Tunis [Tunisia] in the first half of the 20th century. *Clin Exp Rheumatol*. 2003 Jul-Aug; 21(Suppl 30):S53-4; author reply S4.
- 38- Ozen S, Balci B, Ozkara S, Ozcan A, Yilmaz E, Besbas N, et al. Is there a heterozygote advantage for Familial Mediterranean Fever carriers against tuberculosis infections: speculations remain? *Clin Exp Rheumatol*. 2002 Jul-Aug; 20(Suppl 26):S57-8.
- 39- Berdeli A, Mir S, Nalbantoglu S, Kutukculer N, Sozeri B, Kabasakal Y, et al. Comprehensive Analysis of a Large-Scale Screen for MEFV Gene Mutations: Do They Truly Provide a "Heterozygote Advantage" in Turkey? *Genet Test Mol Biomarkers*. 2011 Mar 17.

Study of Four Common Mutations of Familial Mediterranean Fever in North-West of Iran

Karimi A^{*1}; Bonyadi M²; Esmaili M²; Dastgiri S³

¹ Autoimmune Bullous Diseases Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

² Liver & Gastrointestinal Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

³ Department of Community Medicine, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

* Corresponding Author. Tel: +982155155050 Fax: +982155155050 E-mail: abbas.karimi.p@gmail.com

Received: 13 July 2011

Accepted: 18 December 2011

ABSTRACT

Background and Objectives: Familial Mediterranean Fever, an autosomal recessive disorder, is the most common and well known periodical fevers syndrome. Disease is mainly prevalent among non-Ashkenazi Jews, Arabs, Turks and Armenia. According to the geographical location of North-West of Iran, neighboring with two high risk FMF population (Turkey and Armenia), the prevalence of FMF in this region of Iran is not unlikely. The aim of this study was to estimate the carriers rate of FMF common mutations in healthy control people. Results can be potentially useful to estimate prevalence of disease.

Methods: Randomly 200 samples from healthy people [non-FMF] from North-West of Iran selected. After taking consent, DNA was extracted from blood samples of these groups. Then mutations were evaluated using ARMS-PCR and RFLP-PCR techniques.

Results: from 400 studied alleles, 44 and 7 mutant alleles were found for E148Q and V726A respectively. For 2 other mutations, no mutant alleles were found. The total allelic frequency for these four common mutations was 0.132. The carriers rate was 23.4%.

Conclusion: This study showed that E148Q has high mutation frequency relative to other mutations in North-West of Iran.

Key words: Familial Mediterranean Fever; *MEFV* Gene; Common Mutations; North-West of Iran