

## بررسی مولکولی جهش‌های ژن MEFV در مبتلایان به تب مدیترانه‌ای فامیلی مراجعه کننده به بیمارستان آیت‌الله طالقانی تهران طی سال‌های ۱۳۸۵-۸۷

سیدرضا محبی<sup>۱</sup>، مهدی منتظر حقیقی<sup>۲</sup>، بهزاد دماوند<sup>۳</sup>، سجاد مجیدی‌زاده بزرگی<sup>۴</sup>، سید رضا فاطمی<sup>۵</sup>،  
علی تهمامی<sup>۶</sup>، پروین رستمی<sup>۶</sup>، محمد رضا زالی<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup> پژوهشگر، دکترای ویروس شناسی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۲</sup> پژوهشگر، دانشجوی دکترای ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۳</sup> پژوهشگر، کارشناس زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۴</sup> استادیار، فوق تخصص بیماری‌های گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۵</sup> کارشناس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۶</sup> پژوهشگر، کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

<sup>۷</sup> استاد، فوق تخصص بیماری‌های گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

### چکیده

**سابقه و هدف:** تب مدیترانه‌ای فامیلی (FMF) یک بیماری ارثی اتوزومال مغلوب با علایم تب‌های حاد خود محدودشونده و التهاب غشاء‌های سروزی است. ژن MEFV تنها ژن مرتبط با این بیماری است که در این مطالعه به منظور یافتن جهش‌های احتمالی مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** در این مطالعه بنیادی، ۱۵ فرد مبتلا به MEFV که توسط پژوهشک به این مرکز ارجاع شده بودند، بررسی شدند. در ابتدا DNA ژنومیک استخراج گردید، سپس به منظور تکثیر قطعات مورد نظر و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای ۱۰ آگزون (ناواحی کد کننده) ژن MEFV PCR انجام گرفت. پس از آن توالی یابی آگزون‌ها انجام شد و در نهایت آنالیز توالی‌های تکثیر شده صورت گرفت.

**یافته‌ها:** ۲۴ نفر (۴۷/۰۵ درصد) دارای جهش بودند. ۱۴ بیمار (۵۸/۳ درصد) جهش شایع M694V را در آگزون ۱۰ نشان دادند که شامل ۴ موتاسیون هموزیگوت و ۱ جهش هتروزیگوت و ۲ موتاسیون هتروزیگوت مرکب بود. ۶ بیمار (۲۵ درصد) جهش از نوع M680I در آگزون ۱۰ نشان دادند و ۲ فرد نیز (۱/۳ درصد) دارای جهش بودند. یک بیمار جهش هتروزیگوت E148Q در آگزون ۲ را نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** این تحقیق، نتایج مطالعات دیگر منی بر اینکه جهش M694V شایع‌ترین موتاسیون در جمعیت‌های مختلف است را تایید می‌کند.

**واژگان کلیدی:** تب مدیترانه‌ای فامیلی، جهش، ژن MEFV

### مقدمه

تب مدیترانه‌ای فامیلی یا Familial Mediterranean Fever (FMF) یک بیماری التهابی و عودکننده ارثی است که الگوی توارثی اتوزومال مغلوب دارد (۱). این بیماری با تب‌های

عودکننده خود محدود شونده و در در غشاء‌های سروزی، ذات‌الجنب (Pleurtis)، ورم مفاصل (Arthritis) و یا اریتم مشخص می‌گردد (۱، ۲). مهم‌ترین عارضه بیماری FMF پیشرفت آمیلوییدوز است که در نهایت به از کارافتادن کلیه‌ها منجر می‌گردد (۲).

علایم این بیماری می‌تواند در ۱۰ سال اول زندگی بروز کند و بر اساس آخرین آمارها بیش از ۸۰ درصد بیماران، علایم این بیماری را در دوران کودکی و نوجوانی نشان می‌دهند (۱).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، مهدی منتظر حقیقی (email: mah\_haghghi@hotmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۳۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۲۸

است و برای تشخیص بیماری حساسیت و ویژگی دارد، ولی با این وصف تست ژنتیکی روشی غیرتهاجمی و اختصاصی است که در ۱۰۰ درصد موارد فایده تشخیصی دارد. البته باید در نظر داشت که عدم یافتن موتاسیون در ژن MEFV، امکان وجود بیماری را رد نمی‌کند (۱). تاکنون حدود ۵۰ چهش در ژن MEFV در ارتباط با بیماری FMF مشخص شده است که در بین آنها جهش‌های M680I، M694I، V726A، M694V و M694V در اگزون ۱۰ و E148Q در اگزون ۲ بالاترین فراوانی را در مقایسه با سایر جهش‌ها دارند و در این میان، جهش M694V در ارتباط با بیماری FMF حاد، بالاترین فراوانی را دارد (۱)، (۲). البته باید در نظر داشت که نفوذ ناقص، تغییر بیان MEFV و احتمال حضور سایر فاکتورهای احتمالی ژنتیکی می‌تواند بر روی بیان این ژن در بیماری اثر بگذارد.

به نظر می‌رسد که یافته‌های حاصل از بررسی این بیماری در میان نژادهای مختلف جمعیت ایرانی می‌تواند نقش موثری در تشخیص و پیش‌آگهی این بیماری داشته باشد. زیرا با استفاده از روش تشخیص ژنتیکی، امکان شناسایی افرادی از خانواده که در معرض بروز بیماری قرار دارند، ولی علایم بالینی در آنها به طور کامل بروز نکرده‌اند را فراهم می‌کند. علاوه بر این، موقعیت ایران باستان در جاده ایریشم و مهاجرت اقوام دیگر با منابع ژنتیکی متنوع از کشورهای همسایه، به خصوص گروه‌های نژادی مدیترانه‌ای، به ایران سبب شده که جمعیت ما از نظر منابع ژنتیکی متعدد یکی از بهترین جوامع برای مطالعه این بیماری باشد (۱۴، ۱۳).

با توجه به مطالب ارایه شده برآن شدیم که به مطالعه و بررسی دقیق جهش‌های شایع در ژن MEFV بپردازیم و توزیع و فراوانی آنها را مطالعه کنیم.

## مواد و روشها

در این مطالعه بنیادی، ۵۱ فرد مبتلا به بیماری تب مدیترانه‌ای فامیلی (FMF) که به مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد بیمارستان آیت‌الله طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهری بد بهشتی طی سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ ارجاع شده بودند و شاخص‌های بالینی این بیماری را نشان می‌دادند، مورد بررسی قرار گرفتند.

به کلیه بیماران، در مورد نحوه استفاده از نتایج و داوطلبانه بودن حق شرکت یا عدم شرکت در این مطالعه توضیح داده شد و از داوطلبین شرکت در مطالعه، رضایت‌نامه کتبی اخذ گردید. فرم رضایت‌نامه اخلاقی، توسط کمیته اخلاق مرکز

عالیم بیماری در زمان عود شامل تب و دردهای شکمی شدید می‌باشد که معمولاً یک تا سه روز به طول می‌انجامد و به طور خودبخودی فروکش می‌کند (۱). در مدت زمان بین حملات بیماری، معمولاً هیچ‌گونه علایمی وجود ندارد. بهبود حملات به طور خودبخودی رخ داده و تناوب و فواصل حملات در افراد مختلف و حتی در یک بیمار نیز متغیر است (۲). علت مشخص و واحدی برای این حملات شناخته نشده است (۲). ولی فعالیت شدید فیزیکی، تماس با سرما، استرس روحی، قاعده‌گی و بیماری‌های ویروسی ممکن است شروع کننده حملات باشند (۲، ۳). حملات با پیش‌درآمدی شبیه سرماخوردگی با علایمی مانند بی‌حالی و خستگی شروع شده و سپس تب خیلی سریع بالا می‌رود و حمله بیماری شروع می‌شود. مدت، تناوب، تکرار و فواصل حملات در افراد مختلف و حتی در یک بیمار نیز متفاوت است، ولی تیپ حملات و حرکت‌های شروع کننده آن در یک بیمار معمولاً یکسان است (۲).

بیماری تب مدیترانه‌ای فامیلی غالباً در میان مردمان حوزه مدیترانه ظاهر می‌یابد (۳). این بیماری اکثراً در میان نژاد ترک و عرب خاورمیانه، ارمنی‌ها و یهودیان سفراییک مشاهده می‌گردد (۴). اگرچه اخیراً انتشار این بیماری در میان دیگر جمعیت‌ها و نژادهای اروپایی نظیر انگلیسی‌ها، فرانسوی‌ها، بلژیکی‌ها، آلمانی‌ها، هلندی‌ها و پرتغالی‌ها نیز گزارش شده است (۵، ۶).

ژن مرتبط با این بیماری ژن *FeVer* (Mediterranean MEFV) می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۹۷ از بازوی کوتاه کروموزوم ۱۶ (16p13) جدا گردید. این ژن دارای ۱۰ اگزون است که پروتئینی ۷۸۱ آمینواسیدی به نام Pyrin یا Marenostrin با وزن مولکولی ۸۶۰۰۰ دالتون را کد می‌کند. این پروتئین به طور عمد در گرانولوسیتها بیان می‌گردد و تصور می‌شود که در آپوپتوزیس دخالت داشته باشد. هم‌چنین نقش یک تنظیم کننده منفی را در واکنش‌های التهابی بدن بر عهده دارد (۷، ۸). تشخیص اولیه بیماری FMF عمدها بر اساس تظاهرات بالینی، قومیت، سابقه فامیلی و پاسخ به کلشی‌سین می‌باشد (۹). در حالی که تشخیص قطعی این بیماری با بررسی ژن MEFV و شناسایی موتاسیون در اگزون‌های ژن MEFV تعیین می‌گردد. موتاسیون در ژن MEFV در ۵۰-۸۰ درصد موارد قابل شناسایی است، ولی تمام موتاسیون‌های موجود در حال حاضر قابل بررسی نیستند و موتاسیون‌های شناخته شده و شایع در ۸۰ درصد بیماران وجود دارد. اگر چه تابلوی بالینی بیماری مشخص و تیپیک

جدول ۱- نوالی پرایمروهای اختصاصی برای اگزون‌های ژن MEFV

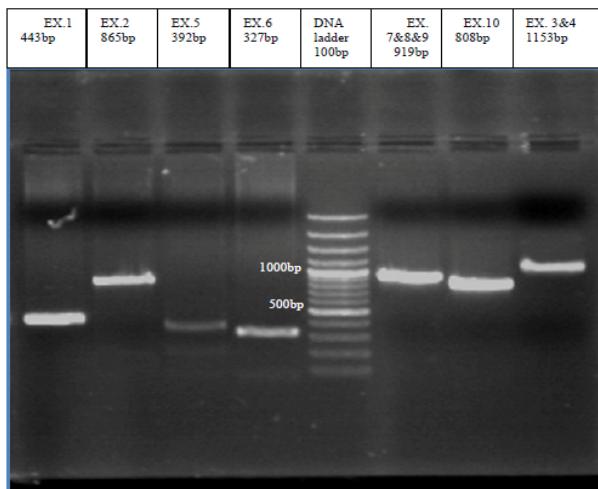
Annealing دما	Reverse پرایمر	Forward پرایمر	Exon
63	5- GGTAGACCTGAGACTCCCAATC -3	5- CCTACCAGAAGCCAGACAGC -3	۱
61	5- GTCTCACTACATTACCCAGGC -3	5- TCTCTCCTCTGCCCTGAATC -3	۲
65	5- CTTGGCTGCTGGTTACCCTC -3	5- AGCTAGGAAGTGGGCAGAGTC -3	۴ و ۳
61	5- GGGTAACCAGCAGCCAAG -3	5- GAATCCAGAGGCTCAGAGG-3	۵
62	5- AAAGGAGGAGTCTGGAATCAC -3	5- CCCGTGGTTAGAATTAGACTTG -3	۶
62	5- AGGAAACAGGGACAGGGTAG -3	5- GTGCCCTGTGGAGAATGTAG -3	۹ و ۸ و ۷
60	5- GTGAATGCAAGATAACAAGGC -3	5- TAGTCCGGAGCTGATTGG-3	۱۰

جهت مشاهده قطعات از اتیدیوم بروماید ( $0.5\mu\text{g}/0.1\text{mL}$ ) جهت رنگ‌آمیزی ژل استفاده شد (شکل ۱).

پس از تکثیر قطعات DNA مورد نظر برای بررسی وجود یا عدم وجود جهش بر روی ۱۰ اگزون ژن MEFV از توالی‌بای‌بی‌ژنی بوسیله دستگاه Gene Analyzer 3130x1 استفاده گردید و در نهایت آنالیز توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Bioedite و Laser gene ver.6.

### یافته‌ها

۵۱ بیمار مبتلا به FMF با میانگین سنی ۲۴ سال مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین سن مربوط به یک دختر ۸ ساله و بالاترین سن مربوط به یک مرد ۵۴ ساله بود. ۳۲ بیمار (۶۲ درصد) مرد و ۱۹ نفر (۳۸ درصد) زن بودند.



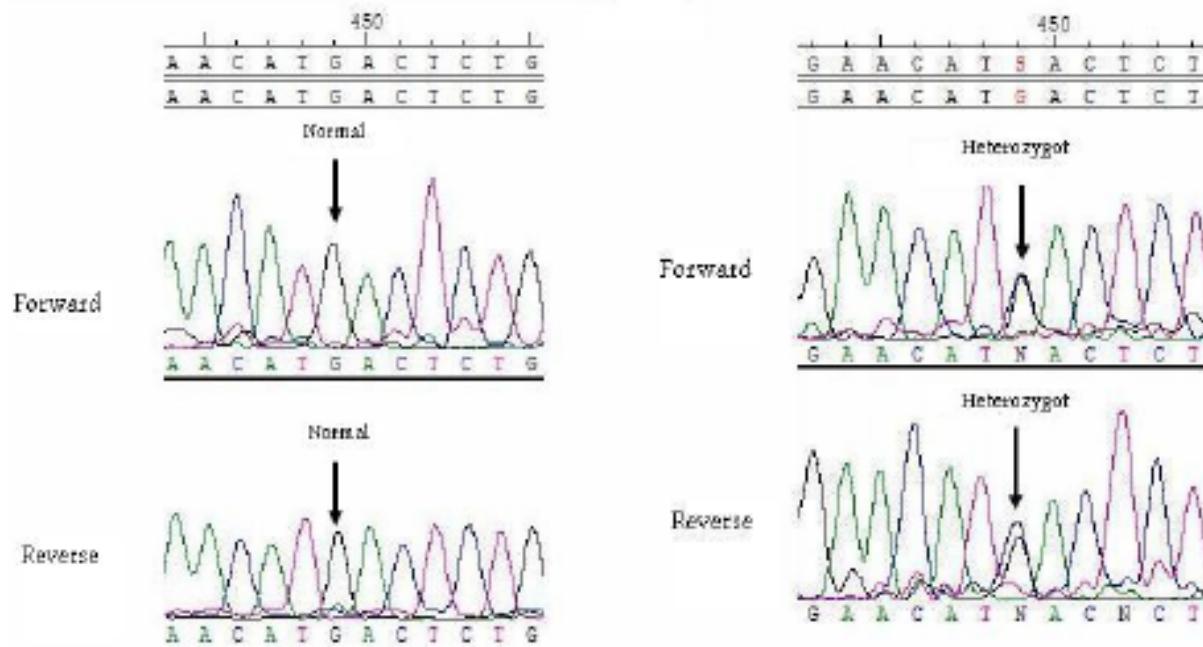
شکل ۱- عکس ژل محصولات PCR با پرایمروهای اختصاصی و DNA Ladder 100bp

تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهرید بهشتی تصویب و مورد استفاده قرار گرفت. کلیه بیماران توسط پزشکان آموزش‌دیده، مشاوره شدند و اطلاعات بالینی آنان کسب گردید و همراه با اطلاعات دموگرافیک در فرم‌های اطلاعاتی مربوطه وارد شد.

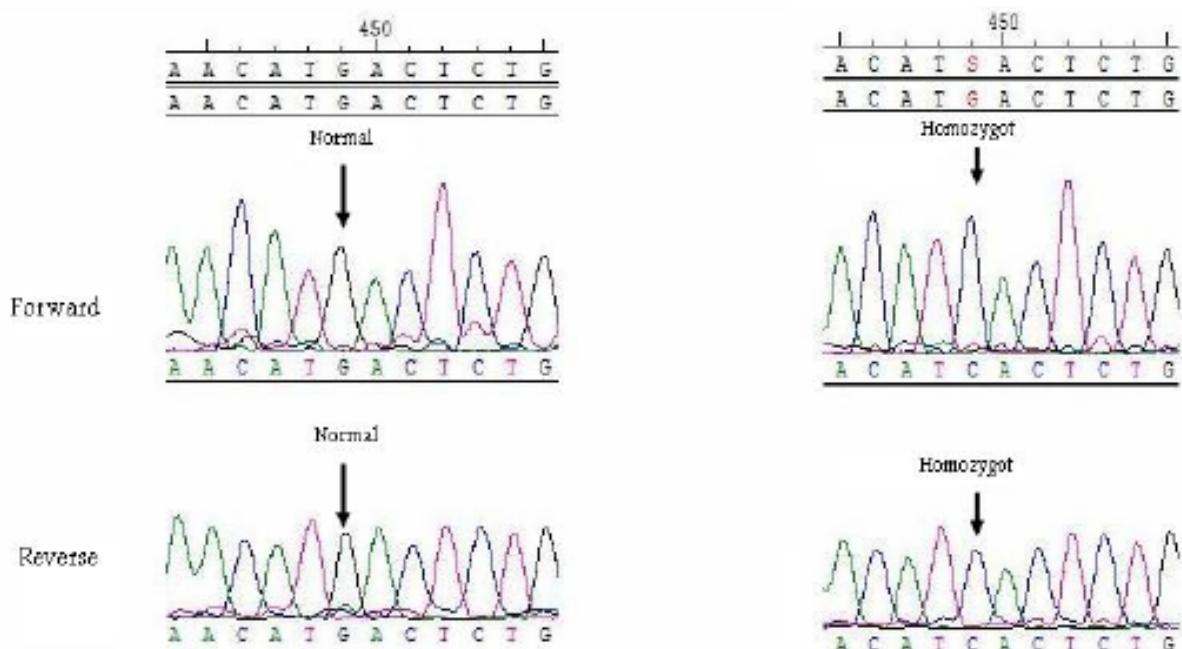
در مرحله بعد، از هر یک افراد، نمونه خون محیطی به میزان ۵ سی سی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی اخذ شد و ژنومیک با استفاده از روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج گردید. برای بررسی جهش‌های ذکر شده، محل جهش‌ها توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از پرایمروهای اختصاصی تکثیر شدند (جدول ۱). این پرایمروها با استفاده از نرم‌افزارهای primer3 و Gene runner طراحی شدند.

برای انجام واکنش PCR از ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو،  $2/5 \mu\text{l}$  بافر X10، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز (Fermentas)،  $200 \mu\text{M}$  داکسی نوکلئوتید  $2/75 \mu\text{l}$  کلرید منیزیم  $50 \mu\text{M}$ ،  $400 \text{nM/L}$  Forward و Reverse تری‌فسفات (dNTP) و  $400 \text{nM/L}$  از پرایمروهای واکنش PCR با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه استفاده گردید. حجم نهایی به  $5 \mu\text{l}$  رسانده شد. واکنش PCR با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه آغاز گردید و مراحل بعدی PCR به ترتیب با ۹۵ درجه (۳۰ ثانیه)، ۵۵ درجه (۶۰ ثانیه)، ۷۲ درجه (۳۰ ثانیه) و ۷۲ درجه (۵ دقیقه) انجام پذیرفت. به منظور کنترل و تایید صحت انجام PCR از نمونه‌های کنترل منفی و مثبت استفاده گردید.

در مرحله بعد  $5 \mu\text{l}$  از محصول PCR، بر روی ژل آگاروز ۱ درصد قرارداده شد و الکتروforez با ولتاژ ۸۵ ولت انجام گرفت و



شکل ۲- محل جهش هتروزیگوت M694V در اگزون ۱۰ و مقایسه آن با توالی نرمال



شکل ۳- محل جهش هموزیگوت M694V در اگزون ۱۰ و مقایسه آن با توالی نرمال

۴ نفر بصورت هتروزیگوت مركب بودند. ۲ بيمار (۸/۳ درصد) داراي جهش از نوع V726A به صورت هموزیگوت بودند و يك بيمار (۴/۱ درصد) نيز برای جهش R761H به صورت هموزیگوت، مشبت بود. (جدول ۲). در مجموع، ۲۳ فرد در اگزون ۱۰ جهش داشتند و يك بيمار نيز جهش هتروزیگوت E148Q در اگزون ۲ را نشان داد.

از ۵۱ فرد با علائم باليني مشکوك به بيماري FMF، ۲۴ نفر (۴۷/۰۵ درصد) داراي يك يا دو جهش بودند. ۱۴ نفر (۵۸/۳ درصد) برای جهش M694V مشبت بودند که در اين بين ۴ نفر هموزیگوت (شکل ۱)، ۸ نفر هتروزیگوت (شکل ۲) و ۲ نفر هتروزیگوت مركب بودند. ۶ فرد (۲۵ درصد) داراي جهش از نوع I M680I بودند که در اين بين، ۲ نفر بصورت هموزیگوت و

## جهش‌های ژن MEFV در تب مدیترانه‌ای فامیلی در ایران

فراوانی این بیماری در گروه مردان (۶۲/۷ درصد) در مقایسه با زنان (۳۷/۳ درصد) میزان بیشتری را نشان می‌دهد که این یافته با اطلاعات بدست آمده از مطالعات قبلی سازگار می‌باشد. طیف سنی مراجعه‌کنندگان که دارای علائم بالینی مشکوک به این بیماری بدنده، بین ۷ تا ۵۵ سال با میانگین سنی ۲۴ سال بود.

در این مطالعه، از ۵۱ فرد مورد مطالعه، فقط ۹ بیمار (۱۷/۶ درصد) دارای سابقه فامیلی مثبت بودند، در صورتی که در تحقیقی مشابه، وجود سابقه فامیلی در بین مبتلایان به این بیماری ۵۰ درصد گزارش شده است (۱۶).

در مطالعه حاضر، ۲۴ جهش مختلف در ژن MEFV مشخص شد که اکثر آنها (۲۲) (جهش) در اگزون ۱۰ اتفاق افتاده بودند (جدول ۲). جهش M694V، بیشترین فراوانی را در مقایسه با سایر جهش‌ها دارا بود که با نتایج مطالعات قبلی مطابقت دارد (۳، ۲).

در این مطالعه، بیمارانی که دارای جهش در کدون ۶۹۴ اگزون ۱۰ بودند، علایم شدیدتری را در مقایسه با سایر جهش‌ها نشان می‌دادند و شدت این علایم در نوع هموزیگوت این جهش (M694V) بیشتر از نوع هتروزیگوت آن بود. مطالعات دیگری که در این زمینه انجام پذیرفته نیز این ارتباط را تایید می‌کنند (شکل ۲ و ۳) (۱۵، ۱۶).

تظاهرات FMF نه تنها در نژادها و جمعیت‌های مختلف متفاوت است، بلکه میان گروه‌های منطقه‌ای در یک نژاد هم تفاوت دارد. آنچه این تفاوت‌ها را افزایش می‌دهد، وجود ژن‌های واسطه‌ای (Modifier) و عوامل محیطی و اختصاصی آن جمعیت می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود این عامل در مطالعات بعدی مشابه مورد توجه قرار گیرند (۱۷).

در این تحقیق مشخص شد که ۱۴ نفر (۵۸/۳ درصد) دارای موتاسیون هتروزیگوت بودند، در مقابل فقط ۱۰ نفر (۴۱/۷ درصد) دارای جهش هموزیگوت بودند. فراوانی بیشتر و غالبیت انتخابی در موتاسیون‌های هتروزیگوت ژن MEFV به عنوان یک فرضیه جالب مطرح می‌باشد و افزایش یکنواخت فراوانی این موتاسیون‌های هتروزیگوت این تفکر را ایجاد کرده است که احتمالاً هتروزیگوت‌ها دارای بعضی مزیت‌های انتخابی هستند که احتمالاً باعث افزایش مقاومت افراد به یک عامل عفونی می‌شود که هنوز شناخته نشده است. علاوه بر این یافته‌های اخیر بیان می‌کند که بقاء (survival) مزیتی است برای حاملین موتاسیون هتروزیگوت در ژن MEFV که ممکن است از پاسخ ایمنی ذاتی به یک کلاس وسیع از پاتوژن‌های باکتریایی مشتق شده باشد. با پذیرش این فرضیه، انتظار داریم

بیشترین افراد مبتلا (۹۲ نفر [۶۲ درصد])، از نژاد ترک بودند. همچنین مشخص شد که ۵ نفر از افراد حامل موتاسیون از نژاد فارس (۲۰/۸ درصد) بودند. سابقه فامیلی بیماری در ۹ نفر (۱۷/۶ درصد) گزارش شد. آنالیز مشخصات بالینی، الگوی کلاسیک بیماری را نشان می‌داد. اکثر بیماران دارای تب و دردهای شکمی در زمان حملات بودند و کمتر آرتربیت داشتند و به ندرت مبتلا به آمیلوویدوز بودند. در ضمن هیچ عارضه پوستی در آنها گزارش نشد.

### جدول ۲ - توزیع جهش‌های ژن MEFV در بیماران مبتلا به تب مدیترانه‌ای فامیلی در ایران

نام جهش	شماره اگزون	مرکب	تعداد کل جهشها(درصد)	هتروزیگوت هموزیگوت	شماره هتروزیگوت هموزیگوت
(۵۸/۳)۱۴	۴	۸	۲	۱۰	M694V
(۲۵)۶	۲	-	۴	۱۰	M680I
(۴۲)۱	۱	-	-	۱۰	R761H
(۸/۳)۲	۲	-	-	۱۰	V726A
(۴/۲)۱	-	۱	-	۲	E148Q

### بحث

بیماری FMF شایع‌ترین سندروم تب دوره‌ای است که بیش از ۱۰۰۰۰ نفر در جهان از آن رنج می‌برند (۱۵). از آنجایی که یک بیماری اتوزومال مغلوب است، لذا دو موتاسیون در ژن MEFV موجب این بیماری می‌شود. با این وجود، ژنوتایپ بعضی از خانواده‌ها الگوی توارث غالب FMF را نشان می‌دهد و این چنین بیمارانی با موتاسیون M694V یا M694I مرتبط هستند (۱۶). بنابراین، این مشاهدات، یک نقش اصلی برای اسید آمینه متیونین در موقعیت ۶۹۴ را در عملکرد بیولوژیکی Marenostrin ژن یعنی پروتئین پیرین (pyrin) یا Marenostrin در نظر می‌گیرند.

ژن MEFV در سلول‌های میلئتید بیان می‌گردد و در تمایز این سلول‌ها دارای نقش تنظیم‌کننده‌ای است (۱۵، ۱۶). واسطه‌های التهابی مانند اینترفرون G و TNFα نیز در این فرایند موثر می‌باشند (۱۵). با توجه به اینکه این پروتئین بطور عمده در سیتوپلاسم نوتوفیل‌های بالغ و مونوسیتها بیان می‌گردد، به نظر می‌رسد با ایجاد جهش در ژن MEFV، عملکرد پروتئین پیرین که تنظیم کننده واسطه‌های التهابی است، دچار اختلال می‌گردد و در نهایت منجر به ایجاد علایم اولیه بیماری می‌شود.

بیماران FMF و خانواده‌های آنها باشد. بنابراین بررسی کامل اگزون‌های ژن MEFV در تمامی بیماران مشکوک به این بیماری پیشنهاد می‌گردد. البته با توجه به اینکه نتایج نشان دادند که بیشترین موتاسیون‌ها در اگزون ۱۰ این ژن رخ می‌دهد و موتاسیون‌ها در این اگزون با عالیم بالینی شدیدتری همراه است، لذا پیشنهاد می‌شود به منظور بررسی مولکولی این بیماران، غربالگری ژنی به منظور یافتن موتاسیون‌ها از اگزون ۱۰ آغاز شود که این امر می‌تواند سبب تسریع در زمان پاسخ‌دهی به بیماران و همچنین کاهش هزینه‌ها شود.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله از بیمارانی که در انجام این تحقیق همکاری کردند، صمیمانه تشکر می‌کنند. همچنین از مسوولین محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد که هزینه و امکانات انجام این تحقیق را فراهم نمودند، سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

### REFERENCES

- Farajnia S, Nakhlband A, Rafeey M, Sakha K. Early age onset familial Mediterranean fever associated with compound heterozygote M680I/M694V mutation. *Afr J Biotechnol* 2006; 19: 1713-16.
- Balci B, Tinaztepe K, Yilmaz E, Gucer S, Ozen S, Topaloglu R, et al. MEFV gene mutations in familial Mediterranean fever phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood: a retrospective clinicopathological and molecular study. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1921-23.
- Mattit H, Joma M, Al-Cheikh S, El-Khateeb M, Medlej-Hashim M, Salem N, et al. Familial Mediterranean fever in the Syrian population: gene mutation frequencies, carrier rates and phenotype-genotype correlation. *Eur J Med Genet* 2006; 49: 481-86.
- Bakkaloglu A. Familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 583-89.
- Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 473-83.
- Onen F. Familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 2005; 26: 489-96.
- Medlej-Hashim M, Salem N, Chouery E, Rawashdeh M, Delague V, Haffar M, et al. A familial Mediterranean fever: the potential for misdiagnosis of E148V using the E148Q usual RFLP detection method. *Clin Genet* 2002; 61: 71-73.
- Ben-Chetrit E, Peleg H, Aamar S, Heyman SN. The spectrum of MEFV clinical presentations-is it familial Mediterranean fever only? *Rheumatology* 2009; 48: 1455-59.
- 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; 8: 307-10.
- Yalçinkaya F, Ozçakar ZB, Kasapçopur O, Oztürk A, Akar N, Bakkaloglu A, et al. Prevalence of the MEFV gene mutations in childhood polyarteritis nodosa. *J Pediatr* 2007; 151: 675-78.
- Cazeneuve C, Sarkisian T, Pêcheux C, Dervichian M, Nédelec B, Reinert P, et al. MEFV-Gene analysis in armenian patients with Familial Mediterranean fever: diagnostic value and unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype-genetic and therapeutic implications. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 88-97.
- Balci B, Tinaztepe K, Yilmaz E, Gucer S, Ozen S, Topaloğlu R, et al. MEFV gene mutations in familial Mediterranean fever phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood: a retrospective clinicopathological and molecular study. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1921-23.
- Majeed HA, El-Khateeb M, El-Shanti H, Rabaiha ZA, Tayeh M, Najib D, et al. The spectrum of familial Mediterranean fever gene mutations in Arabs: report of a large series. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 813-18.

که میزان بیماری حاصل از عوامل عفونی در جنین‌هایی که دو یا چند موتاسیون دارند، پایین باشد. ولی نتایج مطالعه‌ای که اخیرا انجام شده، خلاف این فرضیه را نشان می‌دهد، زیرا این تحقیق ارتباط افزایش مرگ جنینی یا زیگوت‌ها را با دو موتاسیون جدیدنشان داد (۱۷، ۱۸).

مطالعه‌ای دیگر نشان داده است که وجود موتاسیون‌های MEFV در جمعیت‌های شرقی ممکن است بتواند به عنوان یک پلی‌مورفیسم محافظت‌کننده در مقابل بروسلوز عمل کند. این یافته احتمالاً می‌تواند مشابه وجود تعداد زیاد افراد مبتلا به آنمی داشی شکل در جمعیت‌های آفریقایی به عنوان یک اثر محافظتی در برابر مalaria باشد (۱۷، ۱۸). این فرضیه باید در مطالعه مورد-شاهدی آزمایش شود و شیوع موتاسیون‌های MEFV در جمعیت مبتلا به بروسلوز و افراد سالم قادر بروسلوز بررسی شود.

شناسایی چهش‌های شایع ژن MEFV، یک تست مولکولی غیرتهاجمی و حساس برای تشخیص دقیق این بیماری می‌باشد که می‌تواند کمک بزرگی برای مشاوره پزشکی، درمان

14. Sarkisian T, Ajrapetyan H, Shahsuvaryan G. Molecular study of FMF patients in Armenia. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 113-16.
15. Mor A, Shinar Y, Zaks N, Langevitz P, Chetrit A, Shtrasburg S, et al. Evaluation of disease severity in familial Mediterranean fever. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 57-64.
16. Kisacik B, Kalyoncu U, Erol MF, Karadag O, Yildiz M, Akdogan A, et al. Accurate diagnosis of acute abdomen in FMF and acute appendicitis patients. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 2059-62.
17. Sugiura T, Kawaguchi Y, Fujikawa S, Igarashi YHT, Kawamoto M, Takagi K, et al. Familial Mediterranean fever in three Japanese patients, and a comparison of the frequency of MEFV gene mutations in Japanese and Mediterranean populations. *Mod Rheumatol* 2008; 18: 57-59.
18. Yepiskoposyan L, Harutyunyan A. Population genetics of familial Mediterranean fever: a review. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 911-16.