مقاله پژوهشی

بررسی مولکولی جهش E148Q اگزون دو ژن *MEFV* در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس

مرتضی باقری[۱،۲*]، کمال خادم وطنی[۳]، میرحسین سیدمحمدزاد[۴]، عیسی عبدی‌راد[۵]، علی‌رضا رستم‌زاده[۶]، بهزاد رحیمی[۷]، نگین کاوسی[۸]

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۰۸/۲۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۱۱/۰۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: نتایج بررسی‌های اخیر نشان داده است برخی از جهش‌های ژن *MEFV* در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی شایع است. مطالعه حاضر طراحی شد تا حضور یا فقدان جهش E148Q در اگزون ۲ ژن *MEFV* در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس بررسی گردد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق،۹۰ بیمار مبتلا به عروق کرونر قلبی جهت بررسی مولکولی جهش E148Q در اگزون دو ژن *MEFV* به‌صورت داوطلبانه انتخاب شدند. ۲-۳ میلی‌لیتر خون محیطی اخذ و در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد. DNA ی ژنومی با استفاده از روش "نمک اشباع" استخراج شد. از روش RFLP-PCR که مبتنی بر برش آنزیمی است برای تعیین جهش موردنظر استفاده شد.

یافته‌ها: از ۹۰ بیمار موردمطالعه ۷ بیمار (۷/۸ درصد) نسبت به جهش E148Q هتروزیگوت بودند. به‌عبارت‌دیگر از میان ۱۸۰ کروموزوم موردبررسی ۷ کروموزوم (۳/۹ درصد) دارای کروموزوم جهش دار بودند. در این مطالعه جهش E148Q به‌صورت هموزیگوت یافت نشد.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت جهش E148Q در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی از فاکتورهای خطر بیماری محسوب نمی‌شود.

واژگان کلیدی: جهش E148Q، اگزون دو ژن *MEFV*، بیماری عروق کرونر قلبی زودرس

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره اول، ص ۷-۱، فروردین ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران، تلفن:۰۴۴-۳۲۷۷۰۹۶۹

Email: mortezabagheri@umsu.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های عروقی به‌عنوان مهم‌ترین دلیل مرگ‌ومیر در کشورهای در حال رشد مطرح بوده و در آمریکا میزان مرگ‌ومیر مرتبط با آن دو برابر میزان مرگ‌ومیر مرتبط با سرطان است. میزان بروز بیماری عروق کرونر قلب تقریباً معادل یک‌سوم کل بیماران عروقی است. تصلب شریان دلیل اصلی بروز بیماری‌های عروقی است و فاکتورهای ژنتیکی، محیطی و یا تداخل بین آن‌ها در بروز بیماری عروق کرونر قلبی نقش مهمی دارند (۱،۲). در افراد جوان با بیماری عروق کرونر قلبی ریسک فاکتورهای متعددی وجود دارد و نقش التهاب در پاتوژنز بیماری عروق کرونر قلبی به‌خوبی پذیرفته شده است. مارکرهای التهابی که با تصلب شریان همبستگی دارند عبارت‌اند از: CRP[۹] و هموسیستئین. در بیماران سطح CRP بیش از ۳ میلی‌گرم بر لیتر است (۳). افزایش سطح سرمی توتال همو سیستئین تا ۵ میکرومول بر لیتر سبب افزایش ۷۰ درصدی ریسک ابتلا به بیماری عروق

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[۲] پژوهشکده پزشکی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۳] مرکز آموزشی درمانی قلب سیدالشهداء (ع)، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۴]. مرکز آموزشی درمانی قلب سیدالشهداء (ع)، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۵] استاد ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۶] مرکز آموزشی درمانی قلب سیدالشهداء (ع)، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۷] مرکز آموزشی درمانی قلب سیدالشهداء (ع)، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[۸] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

[9] C-reactive protein

کرونر قلبی می‌شود (۴). بیماری تب مدیترانه‌ای یا FMF[1] به‌عنوان یک بیماری التهابی موروثی به این نام معروف است. چون در جمعیت‌های حوزه دریای مدیترانه نظیر ارمنستان (Armenians)، اعراب (Arabs)، یهودی‌ها (Jews)، ترک‌ها (Turks) رایج می‌باشد (۵،۶). حمله‌های کوتاه ناشی از تب از نشانه‌های بارز برای تشخیص بالینی این بیماری می‌باشد. بیماری تب مدیترانه‌ای فامیلی به‌طورمعمول به‌صورت یک صفت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد ولی در موارد نادر به‌صورت غالب هم منتقل می‌شود (۸،۷). ژن FMF، *MEFV*، در کروموزوم ۱۶ قرار دارد. این ژن در سال ۱۹۹۷ شناسایی‌شده و ۱۰ اگزون دارد (۹،۱۰). دهمین اگزون شامل ۴ جهش شایع می‌باشد که برای اولین بار در بیماری تب مدیترانه‌ای فامیلی گزارش شدند (۷،۸،۱۱). پروتئین کد شده توسط ژن MEFV، مارنوسترین[2] و پیرین[3] نامیده می‌شود. این پروتئین از ۷۸۱ اسیدآمینه ساخته‌شده و ۸۶ کیلو دالتون وزن مولکولی دارد. این پروتئین در نوتروفیل‌ها بیان می‌گردد و تصور می‌شود که در آپوپتوز دخالت داشته باشد. نقش یک تنظیم‌کننده منفی را در واکنش‌های التهابی بدن بر عهده دارد (۹،۱۰). تاکنون بیش از ۸۰ جهش در ژن *MEFV* شناسایی شده است (۱۲). اگزون‌های ۲ و ۱۰ به دلیل اینکه حاوی جهش‌های زیادی می‌باشد نقاط هات اسپات 'hot spots` نامیده می‌شوند. در اگزون ۱۰ نیز کدون‌های ۶۸۰ (۱۳) و ۶۹۴ (۱۱) نقاط هات اسپات نامیده می‌شوند (۱۴). این وضعیت نشان می‌دهد که این ناحیه از اگزون ۱۰ در عملکرد ژن *MEFV* تأثیر مهمی دارد. در اگزون ۲ دو جهش در کدون ۱۴۸ شناسایی شده است (۱۱،۱۵). مهم‌ترین و رایج‌ترین جهش‌های شایع ژن *MEFV* عبارت‌اند از: E148Q، V726A، M694V، M680I و M694I (۱۱،۱۵). جهش‌های اگزون‌های ۲ و ۱۰ ژن *MEFV* ۸۰ درصد کل جهش‌ها را شامل می‌شود (۱۱،۱۵). مطالعه Basar و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد در گروهی از بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی حداقل یک آلل جهش دار از ژن MEFV وجود دارد (۱۶). نتایج بررسی‌های اگزون ۱۰ ژن *MEFV* توسط باقری و همکاران در سال ۲۰۱۸، نشان داد در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس جهش‌های V726A، M680I، K695R و A744S شایع است لذا این یافته‌ها می‌تواند در مدیریت بیماران و انتخاب روش‌های درمانی و تشخیصی مفید باشد (۱۷). به نظر می‌رسد انجام تست‌های غربالگری در جهت ردیابی افراد ناقل، پیشگیری از بروز بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش هزینه‌های تحمیل‌شده بر دولت و افزایش کیفیت زندگی در آینده کمک‌کننده خواهد بود. با توجه به شیوع بالای بیماری‌های عروق کرونر قلبی زودرس در ایرانیان، انجام پژوهش در این زمینه بسیار ضروری به نظر می‌رسد. با در نظر گرفتن اهمیت شناسایی جهش‌های ژن *MEFV* در مشاوره و تعیین پروتوکول‌های درمانی در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی و خانواده‌های بیماران بررسی کل اگزون‌ها در بیماران مشکوک توصیه می‌شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی مولکولی حضور یا فقدان جهش E148Q در اگزون ۲ ژن *MEFV* در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس بود.

مواد و روش کار

پس از تصویب و اخذ مجوزهای لازم از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، افراد شرکت‌کننده در این مطالعه در صورت داشتن رضایت‌نامه کتبی انتخاب شدند. در این تحقیق از میان افراد مراجعه‌کننده به مرکز آموزشی درمانی قلب حضرت سیدالشهدا (ع) دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (ارومیه، استان آذربایجان غربی)، ۹۰ بیمار مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس جهت بررسی مولکولی جهش E148Q در اگزون دو ژن MEFV به‌صورت داوطلبانه انتخاب شدند. بیماری‌های عروق کرونر قلبی در افراد بر اساس انفارکتوس میوکارد حاد (افزایش آنزیم‌های قلبی) یا بیماری عروق کرونر ثبت‌شده در آنژیوگرافی کرونر شناخته می‌شود. شرایط شرکت در مطالعه به‌خوبی توسط Basar و همکاران در سال ۲۰۱۴، توصیف شده است (۱۶). یافته‌های بالینی، یافته‌های اکوکاردیوگرافی و الکتروکاردیوگرافی و یافته‌های انژیو گرافی کرونر ثبت گردید و کاهش قطر عروق کرونر بیش از ۵۰ درصد به‌عنوان عروق کرونر قلبی قلمداد گردید و سایر عوامل مخدوشگر از مطالعه حذف شدند (۱۶،۱۷). از بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه، ۲-۳ میلی‌لیتر خون محیطی اخذ و در لوله‌های فالکون ۱۵ میلی‌لیتری حاوی EDTA به‌عنوان ماده ضد انعقاد خون جمع‌آوری و تا روز استخراج DNA ی ژنومی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. با توجه به اینکه بر اساس نتایج مطالعات پیشین فراوانی جهش E148Q در جمعیت افراد سالم ایرانی (گروه کنترل نرمال) معادل

[1] Familial Mediterranean Fever

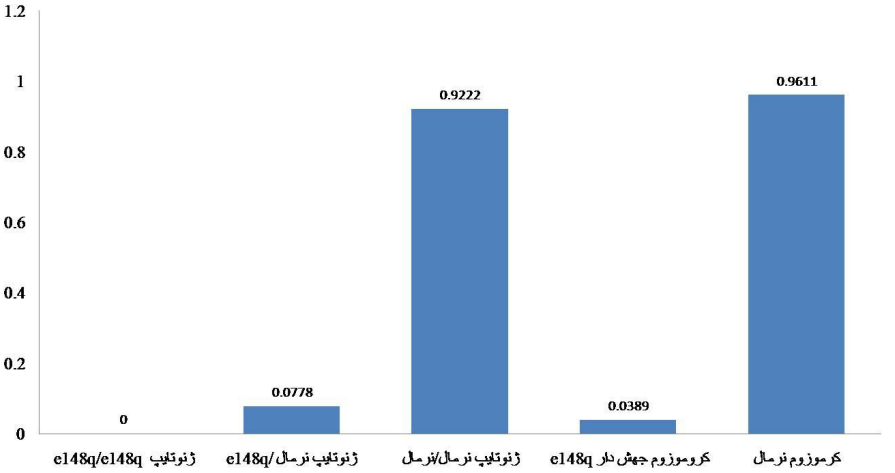
[2] Marenostrin

[3] Pyrin

۰/۰۹ تعیین شده است لذا در این مطالعه گروه کنترل انتخاب نشد و فراوانی جهش موردنظر در مقایسه با یافته‌های مطالعات پیشین آنالیز گردید (۱۸). از خون محیطی بیماران، DNA ی ژنومی با استفاده از روش استاندارد " نمک اشباع" استخراج شد (۱۹). در ابتدا DNA ی ژنومی تائید خلوص گردید و DNA حاصل توسط دستگاه PCR در ناحیه موردنظر با استفاده از دو پرایمر اختصاصی 5'-atcttgggccctaaacgtgg-3' و 5'-tccttcaggtccgcagatgc-3' تکثیر شد (۲۰). واکنش PCR بعد از انجام بهینه سازی در لوله‌های اپندورف ۰/۲ میلی‌لیتری در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل dNTPs با غلظت ۲۰۰ میکرومول، آنزیم پلی مرازی Taq ۰/۲ میکرولیتر، ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl2 با غلظت ۵۰ میلی مولار، DNA در حدود ۱۰۰ نانو گرم، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکو مول و درنهایت بافر X10 به میزان ۲/۵ میکرو لیتر برای هر واکنش انجام گردید (CinnaGen PCR Master Kit,SinaClon Co., Iran). درهضم آنزیمی برای تشخیص جهش E148Q از آنزیم محدودالاثرAvaI (Thermo Scientific) استفاده شد (۲۱). برای هضم آنزیمی در حجم۲۰ میکرولیتری از۱۰میکرولیتر محصول PCR، آنزیم محدودالاثر یک واحد و بافر آنزیم مربوط با غلظت یک واحد (1X) استفاده شد. هضم آنزیمی دردمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت موردنظر مطابق با بروشور شرکت سازنده انجام گردید. برای مشاهده‌ی محصولات برش آنزیمی از ژل آگاروز (SinaClon Co., Iran) ۲/۵ درصد با رنگ safe stain (SinaClon Co., Iran) استفاده شد. سپس ژلها را تحت نور UV آنالیز کردیم و با استفاده از دستگاه ژل داکیومنتیشن تصاویر لازم ثبت و نگهداری شد. با شمارش مستقیم، تعداد آلل ها و ژنوتایپ ها در نمونه‌های موردنظر تعیین شد.

یافته‌ها

از ۹۰ بیمار موردمطالعه ۷ بیمار (۷/۸ درصد) نسبت به جهش E148Q هتروزیگوت بودند و به‌عبارت‌دیگر از میان ۱۸۰ کروموزوم موردبررسی ۷ کروموزوم (۳/۹ درصد) دارای آلل جهش دار بودند. در این مطالعه جهش E148Q به‌صورت هموزیگوت یافت نشد. فراوانی جهش E148Q در گروه بیمار معادل ۰/۰۳۸۹ است. میانگین سنی بیماران ۴۶ سال بود. فراوانی آلل های نرمال و جهش دار و نیز پلی‌مورفیسم‌های مرتبط در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.



جدول (۱): فراوانی جهش e148q در بیماران مطالعه شده. محور افقی انواع آلل ها و ژنوتایپ ها و محور عمودی فراوانی آللی و ژنوتایپی را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری عروق کرونرقلبی کم‌تر از ۵۰ سال به‌عنوان زود رس[1] تلقی می‌گردد. در این بیماران بر اساس یافته‌های آنژیو گرافی میزان گرفتگی عروق حداقل ۵۰ درصد می‌باشد. فاکتورهای خطر سنتی این بیماری عبارت‌اند از دیس لیپیدمیا، سیگار کشیدن، بیماری دیابت، فاکتورهای اجتماعی و روانی، عدم مصرف روزانه میوه و سبزیجات، و عدم فعالیت‌های فیزیکی منظم روزانه، سابقه فامیلی بیماری عروق کرونرقلبی زودرس، و فشار خون بالا (۱). بیماری

[1] premature

عروق کرونر قلبی از شیوع بسیار بالایی در ایران برخوردار است و تصلب شریان در پاتوژنز این بیماری دخیل است. اخیراً ارزیابی شیوع جهش‌های ژن تب مدیترانه‌ای در بیماری عروق کرونر قلبی موردتوجه محققین قرار گرفته است. باقری و همکاران در سال ۲۰۱۸، اگزون شماره ۱۰ ژن *MEFV* را در بیماران مبتلا به عروق کرونر قلبی زودرس از طریق روش مولکولی تعیین توالی ارزیابی نمودند. نتایج آن مطالعه نشان داد جهش‌های شایع در اگزون ۱۰ عبارت‌اند از: V726A، M680I، K695R و A744S (۱۷). نتایج مطالعه Basar و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داده است جهش‌های ژن *MEFV* در بیماران عروق کرونر قلب شیوع بیشتری دارد. در مطالعه ایشان، ۱۹۷ بیمار و ۱۱۹ فرد سالم به‌عنوان کنترل نرمال در سه گروه مطالعه شد. ۹۱ بیمار با تشخیص عروق کرونر قلبی زود رس را در گروه یک قرار دادند. در این گروه سن مردان کم‌تر از ۴۵ سال و سن زنان کم‌تر از ۴۰ سال بود. گروه دوم شامل ۱۰۶ نفر بیمار عروق کرونر قلبی مرد با سن بیش از ۵۰ سال بود. گروه سوم شامل ۱۱۹ نفر از افراد سالم به‌عنوان گروه کنترل نرمال بود. به‌طور کلی ۳۱۶ نفر در این مطالعه از بابت جهش‌های ژنتیکی بیماری تب مدیترانه‌ای E148Q،E167D، T267I، M680I، M694I ، R202Q، A744S، K695R، I259V، V726A،M694V و R761H ارزیابی شدند. در این مطالعه ۴۱/۸درصد از بیماران عروق کرونر قلبی زود رس، ۱۶درصد از بیماران عروق کرونر قلبی بالای ۵۰ سال و ۲۰/۲درصد گروه کنترل سالم یک جهش در ژن *MEFV* داشتند. شایع‌ترین جهش در بیماران عروق کرونر قلبی زود رس جهش هتروزیگوت R202Q و به میزان ۳۹/۴درصد بود. در درجه دوم جهش هموزیگوت R202 به میزان ۱۳/۱درصد و در درجه سوم جهش هتروزیگوت M694V به میزان ۷/۸درصد بود. جهش‌های هتروزیگوت E148Q به میزان ۷/۸درصد، K695R به میزان ۷/۸درصد و جهش هتروزیگوت ترکیبی M694V/R202Q به میزان ۵/۲درصد، جهش هتروزیگوت V726A به میزان ۵/۲درصد، R761H به میزان ۲/۶درصد، M680I به میزان ۲/۶درصد، I259V به میزان ۲/۶درصد و R202Q/E148Q به میزان ۲/۶درصد بود. در بیماران عروق کرونر قلبی زود رس جهش هتروزیگوت R202Q با میزان ۴۷/۱درصد شایع‌ترین جهش بود. جهش‌های هتروزیگوت E148Q معادل ۲۳/۵درصد بود و جهش‌های هتروزیگوت M694V/R202Q ،M680I، K695R، V726A،M694V به‌ترتیب هریک به میزان ۵/۸درصد بودند. شایع‌ترین جهش‌ها در گروه کنترل سالم جهش هتروزیگوت E148Q به میزان ۵۸/۳درصد بود. در درجه بعدی جهش‌های M694V به میزان ۸/۳درصد، E148Q/E148Q به میزان ۸/۳درصد بودند. جهش‌های هتروزیگوت E230K/R202Q،T177 I،A744S ،K695R و M694V/R202Q هریک به میزان ۴/۲درصد بود (۱۶). Grimaldi و همکاران در سال ۲۰۰۶ به تعداد ۱۲۱ بیمار انفارکتوس حاد میوکارد را به جهت بررسی حضور جهش‌های ژنتیکی M694I،M694V و V726A ارزیابی نمودند. نتایج مطالعه ایشان نشان داد در جمعیت موردمطالعه ایشان جهش‌های M694I و V726A وجود ندارد و جهش M694V به‌صورت هتروزیگوت به میزان ۱۲درصد در جمعیت موردمطالعه از بیماران شایع بود (۲۲). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد علاوه بر اگزون ۱۰ سایر اگزون‌های ژن *MEFV* نیز در بیماری عروق کرونر قلبی قابل بررسی می‌باشد. چنانکه ارزیابی اگزون ۲ ژن *MEFV* در بیماران عروق کرونر قلبی در مطالعه حاضر نشان می‌دهد جهش E148Q به‌صورت هتروزیگوت در ۷/۸ درصد از بیماران وبه عبارتی دیگر در ۳/۹ درصد از کروموزوم‌های بررسی شده وجود دارد. با در نظر گرفتن فراوانی جهش E148Q، یافته این مطالعه در گروه بیمار معادل ۰/۰۳۸۹ است و تفاوت معنی‌داری در مقایسه با سایر گروه‌های کنترل نرمال نشان نمی‌دهد. فراوانی جهش E148Q در بین افراد سالم (کنترل نرمال) ایرانی، عربی، ارمنی، یونانی، یهودیان غیر اشکنازی، لبنانی، سوری و ترک به‌ترتیب معادل ۰/۰۹، ۰/۰۶، ۰/۰۱، ۰، ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۰۶ و ۰/۰۶ می‌باشد (۲۳). می‌توان نتیجه گرفت جهش E148Q از فاکتورهای خطر بیماری عروق کرونر قلبی در بیمارن موردمطالعه نمی‌باشد. برخی از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم ثبت اطلاعات پاراکلینیکی و پزشکی بیماران بود و نیز عدم دسترسی به سوابق اجتماعی، اقتصادی و پزشکی بیماران و خانواده‌های ایشان بود. طراحی مطالعه جدید در مقیاس وسیع و با توجه به سایر متغیرها و فاکتورهای دخیل موردنیاز است تا نتایج این بررسی تکمیل گردد.

تشکر و قدردانی

کلیه هزینه‌های این طرح از طرف معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تقبل گردید (شماره گرانت: ۱۷۴۸). کلیه مراحل این طرح توسط کمیته اخلاق در تحقیقات پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تأیید شد (کد اخلاقی: ۱۳۹۴.۱۳۸ .Ir.umsu.rec). بدین‌وسیله ازتمامی همکاران مرکز آموزشی درمانی قلب حضرت سیدالشهدا (ع) و کلیه افرادی که در این پروژه مشارکت داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع: برای مقاله‌ی حاضر تعارض در منافع وجود نداشت.

References

1. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation 1998; 97(18):1837-47.
2. Gasparyan AY, Stavropoulos-Kalinoglou A, Mikhailidis DP, Toms TE, Douglas KM, Kitas GD. The rationale for comparative studies of accelerated atherosclerosis in rheumatic diseases. Curr Vasc Pharmacol 2010; 8(4):437-49.
3. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. Circulation 2003;107: 363–9.
4. Danesh J, Lewington S. Plasma homocysteine and coronary heart disease: systematic review of published epidemiological studies. J Cardiovasc Risk 1998;5(4):229-32.
5. Heller H, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean Fever (FMF). Arch Int Med 1958; 102: 50-71.
6. Cazeneuve C, Sarkisian T, PeÃcheux C, Dervichian M, Nédelec B, Reinert P, et al. MEFV-gene analysis in Armenians patients with familial Mediterranean fever: diagnostic value, unfavorable renal prognosis of the M694V homozygous genotype, genetic and therapeutic implications. Am J Hum Genet 1999;65(1):88-97.
7. Aksentijevich I, Torosyan Y, Samuels J, Centola M, Pras E, Chae JJ, et al. Mutation and haplotype studies in 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 Genet1999; 64: 949-62.
8. Booth DR, Gilmore JD, Lachmann HJ, Pepys MB, Hawkins PN. The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever. Q J Med 2000; 93: 217- 21.
9. French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. Nat Genet 1997;17(1):25–31.
10. The International FMF consortium. Ancient missensemutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. Cell 1997; 90(4): 797 - 807.
11. Bernot A, da Silva C, Petit JL, Cruaud C, Caloustian C, Castet V, et al. Non-founder mutations in the MEFV gene establish this gene as the cause of familial Mediterranean fever (FMF). Hum Mol Genet 1998; 7(8): 1317- 25.
12. Isabelle T. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. Eur J Hum Genet 2001;9(7): 473-83.
13. Bagheri M, Rad IA. Analysis of the Most Common Three MEFV Mutations in 630 Patients with Familial Mediterranean Fever in Iranian Azeri Turkish Population. Maedica (Buchar) 2017;12(3):169-73.
14. Rigante D, La Torraca I, Ansuini V, Compagnone A, Sallì A, Stabile A. The multi-face expression of familial Mediterranean fever in the child. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2006;10(4):163-71.
15. Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, et al. Turkish FMF Study Group.Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. Medicine (Baltimore) 2005; 84(1):1-11.
16. Basar N, Kisacik B, Ercan S, Pehlivan Y, Yilmaz S, Simsek I, et al. Familial Mediterranean fever gene mutations as a risk factor for early coronary artery disease. Int J Rheum Dis 2017; 20(12):2113-7.
17. Bagheri M, Khadem-Vatani K, Mohammad Zad MHS, Abdi Rad I, Rahimi B, Rostamzadeh A, et al. Analysis of the mutations in exon 10 of MEFV gene in patients with premature coronary heart disease in west Azerbaijan province of Iran. J Cardiovasc Thorac Res 2018; 10(1):20-3.
18. Beheshtian M, Izadi N, Kriegshauser G, Kahrizi K, Mehr EP, Rostami M, et al. Prevalence of common MEFV mutations and carrier frequencies in a large cohort of Iranian populations. J Genet 2016; 95(3):667-74.

19. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16: 1215.
20. Akar N, Öztürk A, Arslan Ç, Akar E, CastilloTaucher S, Passalacqua C. A novel MEFV gene mutation (A511V) in a Chilean FMF patient. Egyptian J Med Hum Genet 2011; 12(1): 21-4.
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; 61(1):71-3.
22. Grimaldi MP, Candore G, Vasto S, Caruso M, Caimi G, Hoffmann E, et al. Role of the pyrin M694V (A2080G) allele in acute myocardial infarction and longevity: a study in the Sicilian population. J Leukoc Biol 2006;79(3): 611-5.
23. Papadopoulos VP, Giaglis S, Mitroulis I, Ritis K. The population genetics of familial Mediterranean fever: a meta-analysisstudy. Ann Hum Genet 2008;72(Pt 6):752-61.

Original Article

MOLECULAR STUDY OF E148Q MUTATION IN EXON 2 OF *MEFV* GENE IN PATIENTS WITH PREMATURE CORONARY ARTERY DISEASE

Morteza Bagheri[1,2*], Kamal Khadem-Vatani[3], Mir Hossein Seyed Mohammad Zad[4], Isa Abdi Rad[5], Alireza Rostamzadeh[6], Behzad Rahimi[7], Negin Kavosi[8]

Received: 12 Nov, 2018; Accepted: 29 Jan, 2019

Abstract

Background & Aims: Recent studies have shown that some of the *MEFV* gene mutations are common in patients with coronary artery disease. The present study was designed to investigate the presence or absence of E148Q mutation in exon 2 of MEFV gene in patients with premature coronary artery disease.

Materials & Methods: In this study, 90 patients with coronary artery disease were voluntarily selected for molecular analysis of the E148Q mutation in the exon 2 of the *MEFV* gene. 2-3 ml of peripheral blood was collected in tubes containing EDTA. Genomic DNA was extracted using "salting out" method. RFLP-PCR was used to determine the E148Q mutation.

Results: Of 90 patients studied, 7 (7.8%) patients were heterozygous for the E148Q mutation. In other words, of 180 chromosomes examined, 7 chromosomes (3.9%) had a mutated allele regarding E148Q mutation. In this study, the E148Q mutation was not found to be homozygote in tested samples.

Conclusion: It can be concluded that E148Q mutation is not a risk factor for coronary artery disease in the tested group.

Keywords: E148q Mutation, Mefv Gene, Premature Coronary Artery Disease

***Address*:** Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.
Tel: +98 (44) 32770969
Email: mortezabagheri@umsu.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2019: 30(1): 007 ISSN: 1027-3727

[1] *Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[2] *Cellular and Molecular Medicine Research Center, Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[3] *Seyed Al-Shohada Hospital, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[4] *Seyed Al-Shohada Hospital, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[5] *Professor of Genetics, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[6] *Seyed Al-Shohada Hospital, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[7] *Seyed Al-Shohada Hospital, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[8] *Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*