

MEFV Gen İncelemede Yeni Nesil Dizileme (NGS) ile Fragment Analizi Arasındaki Etkinliğin Karşılaştırılması

Comparison of Efficacy Between Next Generation Sequencing and Fragment Analysis in MEFV Gene Analysis

Özgün Araştırma
Research Article

Aslıhan Kiraz[®]

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) hastalığında fragment analizi ve yeni nesil dizileme (NGS) yöntemlerinin tanıdaki etkinliğini karşılaştırmaktır. Çalışmadan elde edilen veriler klinisyenlere FMF hastalarının teşhisinde rehberlik edecektir.

Yöntem: Kayseri Şehir Hastanesi, tıbbi genetik laboratuvarında fragment analizi uygulanarak sonucu normal (N/N) ya da heterozigot (M1/N) olan 290 hasta çalışmaya alındı. Bu hastalarda NGS analizi yöntemi ile MEFV geninin tamamı incelendi. Bu hastaların mutasyon profili retrospektif olarak karşılaştırıldı, verilerin istatistiksel analizi SPSS 22.0 paket programı ile analiz edildi.

Bulgular: Fragment analizinde belirlenen tüm mutasyonlar NGS yöntemi ile saptanmıştır. NGS analiz yönteminde 22 hastada ek mutasyonlar gözlenmiştir. Daha önce HGMD, Clinvar ve Infevers veri tabanında yer almayan mutasyonlar literatüre kazandırılmıştır. Hastalara NGS yönteminin uygulanması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$)

Sonuç: Fragment analizi FMF hastalarının tanısında sık görülen değişimleri inceleyen ancak kesin tanı koymak için yetersiz kalan düşük maliyetli bir yöntemdir. NGS analiz metodu tanıda yararlılık açısından tercih edilebilir analiz yöntemi olmalıdır.

Anahtar kelimeler: Ailesel Akdeniz ateşi, pirin, ateş, karın ağrısı

ABSTRACT

Objective: This study aims to compare the diagnostic effectiveness of fragment analysis and next-generation sequencing methods in Familial Mediterranean Fever (FMF) disease. Data from the study will guide clinicians in the diagnosis of FMF patients

Method: Two hundred and ninety patients with normal (N/N) or heterozygous (M1/N) fragment analysis results had been included in the study in the medical genetics laboratory of Kayseri City Hospital. In these patients, the entire MEFV gene was examined by the NGS analysis method. The mutation profiles of these patients were compared retrospectively. Statistical analysis of the data was performed using SPSS 22.0 package program.

Results: All mutations found in the fragment analysis were also detected by NGS method. Additional mutations were observed in 22 patients in the NGS analysis method. Mutations that were not previously reported in the HGMD, Clinvar and Infevers database were introduced into the literature. The application of NGS method to the patients was found to be statistically significant ($p<0.01$)

Conclusion: Fragment analysis is a low-cost method that examines the frequent changes in the diagnosis of FMF patients but is insufficient to make a definitive diagnosis. NGS analysis method should be a preferable analysis method, in terms of diagnostic usefulness.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, pyrin, fever, abdominal pain

Received/Geliş: 26.06.2020

Accepted/Kabul: 06.10.2020

Published Online: 29.04.2021

Aslıhan Kiraz

Tıbbi Genetik Departmanı,
Kayseri Şehir Eğitim
Araştırma Hastanesi,
Kayseri - Türkiye

✉ aslihankiraz@yahoo.com

ORCID: 0000-0001-7317-2717

Cite as: Kiraz A. MEFV gen incelemesinde yeni nesil dizileme (NGS) ile fragment analizi arasındaki etkinliğin karşılaştırılması. Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi. 2021;31(1):34-40.

© Telif hakkı T.C. Sağlık Bakanlığı İzmir Tepecik Eğit. ve Araşt. Hastanesi. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Association of Publication of the T.C. Ministry of Health İzmir Tepecik Education and Research Hospital. This journal published by Logos Medical Publishing.

Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY)



GİRİŞ

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF, OMIM # 249100) en sık gözlenen mendeliyen kalıtmıli otoinflamatuvar hastalıktır. Tekrarlayan ateş, karın ağrısı, eklem ve kas ağrısı atakları ile karakterize olan hastalık en sık rastlanan periyodik ateş sendromlarından biridir. Hastaların analizinde tipik otozomal resesif kalıtım paterni göze çarpmaktadır ⁽¹⁾. Çoğunlukla Akdeniz toplumlarında (Ermeniler, Sefardik, Yahudiler, Türkler, İtalyanlar vb.) görülmekle birlikte, günümüzde Almanya, Çek Cumhuriyeti, Amerika ve Japonya gibi dünyanın birçok yerinde izlenebilmektedir. Yüksek risk toplum prevalansı 1-4/1.000 olarak bildirilmiştir ⁽²⁾. Risk altındaki popülasyonlar arasındaki taşıyıcılık frekansı çok yüksektir (1:3/1:10) ⁽³⁾. FMF hastalığına neden olan Akdeniz ateşi geni (*MEFV*, * 608107), 16p13.3 kromozomal bölgesinde lokalize olan ve 781 aminoasitlik pyrin/marenostrin proteinini kodlayan 10 ekzonlu bir gendir. İnflamatuvar hastalıklarla ilişkili, online temelli INFEVERS (<http://fmf.igh.cnrs.fr//infevers>) veri tabanına göre bugün tanımlanan 310'dan fazla *MEFV* geni sekans değişikliği bildirilmiştir. Bildirilen bu varyantların çoğunun klinik önemi net değildir ⁽⁴⁾. Şimdiye kadar tanımlanan mutasyonlar FMF hastalarının %70-80'inde mevcuttur. Bu nedenle FMF hastalarının klinik değerlendirmesi tanıda hâlâ önemini korumaktadır ⁽²⁾. FMF hastalığı mutasyonlarının çoğu *MEFV* geni exon 2, 3, 5 ve 10 da yer almaktadır ⁽⁵⁾. *MEFV* geni mutasyon incelemesinde çeşitli yöntemler uygulanabilmektedir. Strip metodu, pyrosekans analizi, sanger dizileme, fragment analizi, yeni nesil dizileme (NGS) metodu bu yöntemlerden bazılarıdır. Mutasyonlara özgü yapılan çalışmalarda değişimlerin en sık izlendiği bölgeler incelemeye alınır. Bu çalışmada, Aralık 2018-Kasım 2019 tarihleri arasında tıbbi genetik laboratuvarında fragment analizi ve NGS analizi yöntemleri uygulanan FMF hastalarının genetik analiz sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Yapılan çalışma ile FMF hastalığının tanısında kullanılan bu iki yöntemin etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışma ile ilk kez *MEFV* geni mutasyon analizinde tanıda uygulanan fragment analizi ve NGS yöntemlerine odaklanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler FMF'li hastalara tanı aşamasında tetkik seçimi hususunda klinisyenlere yol gösterici olacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma retrospektif klinik araştırmadır. Hastanemiz klinik araştırmalar etik kurulundan 31/01/2020 tarihli ve 1 numaralı karar numarası ile onay alınmış ve çalışmada etik standartlara uyulmuştur. Aralık 2018- Kasım 2019 yılları arasında klinik olarak Tel hashomer kriterlerini karşılayan, FMF uyumlu hastaların genetik analiz sonuçlarının uygulanan fragment ve NGS test yöntemleri açısından incelenmesi üzerine planlanmıştır. İncelenen hastaların yazılı bilgilendirilmiş onamları alınmıştır. Hastaların seçiminde herhangi bir yaş ya da cinsiyet ayrımı gözetilmemiştir. Hastalar FMF hastalarında uygulanan rutin genetik incelemelere tabi tutulmuştur. Fragment analizi yapılan hastalarda birleşik heterozigot mutasyonlar da gözlenebilmektedir. Ancak, çalışmamızda, fragment analizinde birleşik heterozigot (M^1/M^2) ya da homozigot (M^1/M^1) mutasyon saptanan olgular çalışma grubuna alınmamıştır. Çalışma grubu fragment analizi uygulanarak normal (N/N) ya da heterozigot (M^1/N) sonucu olan 290 kişilik hasta grubundan oluşmaktadır. Fragment analizi sonucunda normal (N/N) ya da heterozigot (M^1/N) çıkan 290 hastaya NGS analizi yöntemi uygulanarak *MEFV* geninin tamamı incelenmiştir. Söz konusu yöntemlerle ilgili mutasyon incelemeleri Kayseri Şehir Hastanesi, tıbbi genetik laboratuvarında ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

Fragment analiz yönteminde hastalardan alınan periferik kan örneklerinden elde edilen DNA materyaline spesifik primerlerle (GML SNP DEctective *MEFV* kit) PZR yapılmıştır. Elde edilen PZR ürünü ABI 3500 DNA Sequencer'da fragment analizi uygulanarak değerlendirilmiştir. Fragment analizi yöntemi ile *MEFV* genine ait 18 mutasyon incelenmiştir. Bu mutasyon-

lar yerleşim b3lgelerine g3re Exon 2: *p.E148Q*, *p.E167D*, *p.S179I*, *p.R202Q*; Exon 3 : *p.P350R*, *p.P369S*; Exon 5 : *p.Y471X*, *p.F479L* ve Exon 10 : *p.G632A*, *p.M680I*, *p.I692del* *p.M694V*, *p.M694I*, *p.K695N*, *p.K695R*, *p.V726A*, *p.A744S*, *p.R761H* mutasyonlarıdır. Fragment analiz sonucu normal ya da heterozigot olan hastalar yeni nesil dizileme metodu ile t3m kodlayan b3lgeleri ve ekzon-intron bağlantı noktalarını içerecek şekilde yeni nesil dizileme analizi ile incelemeye alınmıştır (Illumina Miseq, Qiagen Clinical Insight Analyse).

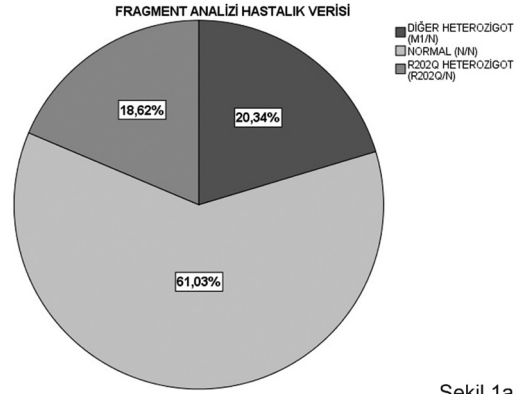
İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS22.0 paket programı ile analiz edilmiştir. Kategorik değişkenler y3zde (%) olarak belirtilmiştir. İstatistiksel ıkarsamalar pearson ki-kare testi yardımıyla analiz edilmiş ve $p < 0,01$ anlamlı kabul edilmiştir.

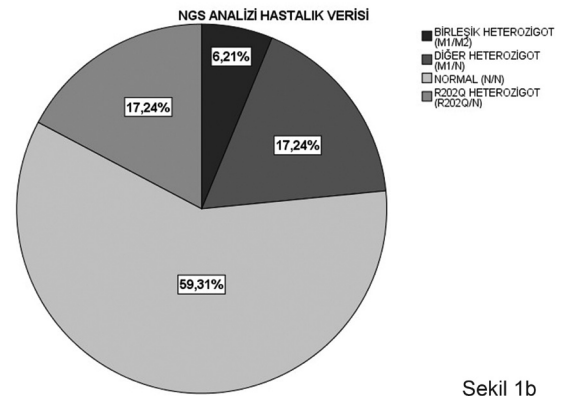
BULGULAR

Analizi yapılan 290 hastanın 177 (%61)'si normal (N/N), 113 (%39)'u bir mutasyon açısından taşıyıcı bulunmuştur. Fragment analizinde bulunan t3m mutasyonlar NGS metodunda da saptanmıştır. Hastalara yapılan fragment analizinde 177 normal (%61), 54 *p.R202Q/N* (18,6) ve 59 diğer heterozigot (M^1/N) mutasyonları (%20,3) izlenirken, NGS metodunda 172 normal (%59,3), 50 *p.R202Q/N* heterozigot (17,2), 50 M^1/N heterozigot (%17,2) ve 18 M^1/M^2 birleşik heterozigot mutasyonları (%6,2) izlenmiştir (şekil 1a-1b).

Fragment analizi uygulanan 290 hastada g3r3lenlere ek olarak ileri inceleme olan NGS metodunda 22 (%7,6) hastada fragment analizinden farklı mutasyonlar izlenmiştir. Bu hastaların 5'i (%2,8) fragment analizinde normal olan grupta (n:177) belirlenirken, 17'si (%15) taşıyıcı grupta (n:113) izlenmiştir. Yapılan Pearson ki-kare testinde hastalara NGS metodu uygulamanın tanısalsal açıdan anlamlı olduğu g3zlenmiştir ($p < 0,01$). Fragment analizinde *p.P369S* mutasyonu saptanan 13 hastanın 10'unda NGS analiz y3ntemi ile



şekil 1a



şekil 1b

şekil 1a. Fragment analizi yapılan hastaların mutasyon durumu b. NGS analizi yapılan hastaların mutasyon durumu.

Tablo 1. Çalışma grubunda MEFV gen mutasyonlarının y3ntemlere g3re dağılımı.

	FRAGMAN MUTASYON VERİSİ (n:290)	NGS MUTASYON VERİSİ (n:290)
NORMAL	177	172
A744S HETEROZİGOT	2	2
D424E HETEROZİGOT	0	1
E148Q HETEROZİGOT	14	11
E148Q HETEROZİGOT/ G304R HETEROZİGOT	0	1
E148Q HETEROZİGOT/L110P HETEROZİGOT	0	2
E148V HETEROZİGOT	0	2
K695R HETEROZİGOT	3	3
M680I HETEROZİGOT	7	7
M694I HETEROZİGOT	2	2
M694V HETEROZİGOT	6	6
P369S HETEROZİGOT	13	3
P369S HETEROZİGOT/R408Q HETEROZİGOT	0	10
R202Q HETEROZİGOT	54	50
R202Q HETEROZİGOT/M680V HETEROZİGOT	0	2
R202Q HETEROZİGOT/P306_T309delinsRG HETEROZİGOT	0	1
R202Q HETEROZİGOT/Q172R HETEROZİGOT	0	1
R441X HETEROZİGOT/R628K HETEROZİGOT	0	1
R761H HETEROZİGOT	2	2
T267I HETEROZİGOT	0	1
V726A HETEROZİGOT	10	10

p.P369S/p.R408Q birleşik heterozigotluğu izlenmiştir. Fragment analizinde *p.R202Q/N* değişimi olan 2 hastada NGS analiz yöntemi sonrasında *p.R202Q/p.M680V* birlikteliği gözlenirken, 2 hastada da *p.E148Q/p.L110P* birlikteliği belirlenmiştir. Hastalara ait mutasyonların yöntemlere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

FMF hastalarının tanısının olabildiğince doğru şekilde konulabilmesi hastaların uygun tedavi alabilmesi ve AA tipi amiloidoz gelişiminin önüne geçilebilmesi adına anlamlıdır. Çalışmamızın amacı, *MEFV* gen analizinde fragment ve NGS metodu ile elde edilen sonuçları etkinlik açısından kıyaslamak ve elde edilen sonuçlarla klinisyenlere yol göstermektir.

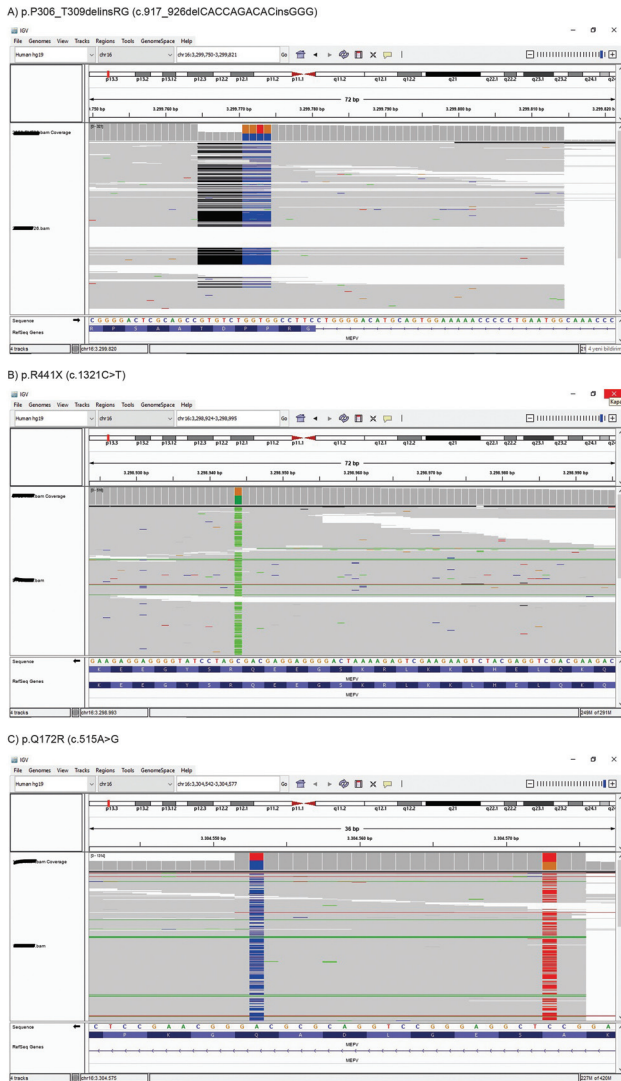
Fragment analizi, belli bölgelerde, spesifik mutasyonların çalışıldığı tetkiklerden biridir. Belirli bir bölge çalışıldığı için, yapılan incelemede hastanın fragment analiz sonucu inceleme alanı dışındaki mutasyonları gösteremez ve normal çıkabilir. Fakat bu durum klinik pozitif olan hastalarda, hastanın *MEFV* geni mutasyonu negatif olduğu kesinliğini göstermez. Hastanın incelemeye alınmayan bölgelerinde, farklı ekzonlarda başka mutasyonlar da olabilir. Bu nedenle hastanın *MEFV* geninin tamamı incelenmelidir. Genin tamamının incelenebilme yöntemlerinden biri NGS metodudur. NGS metodu ilgili genin tüm ekzonlarının gözlenebildiği, uygulanabilirliği kolay fakat maliyeti yüksek bir yöntemdir. Fragment analizinden farklı *MEFV* genini bölgesel olarak değil, tüm ekzon ve ekzon-intron bağlantı bölgelerini de içerecek şekilde okuyabilmektedir.

FMF bir hastalık allelinin iki kopyasının eksprese edilmesi gereken otozomal resesif bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Buna rağmen, hastaların ¼'ünün heterozigot taşıyıcılığa ve hastalık kliniğine sahip olması genetik heterojenitenin varlığını düşündürülebilir. İkizlerde yapılan çalışmalar FMF klinik ekspresyonunda *MEFV* gen varyantlarının yanı sıra çevresel

faktörler ve değiştirici genlerin de rol oynadığını göstermiştir ⁽⁶⁾. Ayrıca otoimmün hastalıklar ve/veya sorumlu olabilecek başka genler, *MEFV* genetik analizinde mutasyon belirlenmeyen hastalarda akılda tutulmalıdır ⁽⁴⁾. Literatürde Akdeniz çalışmalarına dayanan verilerde tanımlanan beş mutasyon (*p.E148Q*, *p.M680I*, *p.M694V*, *p.M694I* ve *p.V726A*) FMF mutasyonlarının %70'ini oluşturmaktadır ⁽⁷⁾. *p.V726A*, *p.M694V*, *p.M694I*, *p.M680I* mutasyonları hastalıkla ilişkilendirilmiştir. *p.E148Q* mutasyonunun bir polimorfizm ya da hastalık etkeni bir mutasyon olup olmadığı açık değildir. Benzer şekilde *p.R408Q* ve *p.P369S* mutasyonları da hastalıkta bilinmeyen öneme sahiptir (VUS: variant of unsignificance) ⁽²⁾. *p.R202Q* değişimi Türk popülasyonunda %5-34 olarak belirtilmiştir ⁽⁸⁾. Güneşaçar ve ark. ⁽⁹⁾ 2014 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, *p.R202Q/p.R202Q* homozigot değişimini FMF hastalarında kontrollere göre yüksek olarak belirtilirken, *p.R202Q/N* heterozigot değişimini hasta ve kontrol grubunda benzer bulmuşlardır. Çomak ve ark. ⁽⁷⁾ çalışmalarında, R202Q değişiminin bir polimorfizmden çok mutasyon olduğunu bildirmişlerdir. R202Q klinik bulguları ve amiloidoz ilişkisi net bir şekilde kurulmamıştır. Ancak, R202Q homozigot durumu veya başka bir *MEFV* mutasyon birlikteliği olan olgularda kolşisin tedavisi gerekebileceğini belirtmişlerdir. Bu bilgiler ışığında *p.R202Q/N* heterozigot değişiminin hastalığın seyrinde düzenleyici ek bir faktör olabileceği düşünülebilir.

FMF hastalığı otozomal resesif kalıtım paternine sahip olarak kabul edildiğinden çalışma grubu hastalarında fragment analizi uygulanan ve sonucu normal ya da heterozigot mutant çıkan olgular NGS metodu ile ileri çalışmaya alındığında fragment analizinde izlenen mutasyonların tamamı NGS analizinde de saptandı. Ancak, 22 hastanın NGS analizinde fragment analizinde izlenmeyen ek mutasyonlar görüldü. Fragment analizinde mutasyon izlenmeyen normal (N/N) grupta NGS analizi ile exon 2'de *p.E148V/N* (c.443A>T), *p.T267I/N* (c.800C>T), exon 8'de *p.D424E/N* (c.1272 T>A), exon 4'te *p.R441X/N*

(c.1321C>T) ve exon 10'da *p.R628K/N* (c.1883 G>A) değişimleri izlendi. Fragment analizinde *p.R202Q/N* heterozigot değişim izlenen grupta NGS analizi sonrasında ek olarak *p.M680V* (c.2038A>G) heterozigot, *p.Q172R* (c.515 A>G) heterozigot, *p.P306_T309delinsRG* (c.917_926delCACCAGACACinsGGG) heterozigot, değişimleri belirlendi. Bunlardan *p.R441X*, *p.Q172R*, *p.P306_T309delinsRG* daha önce den HGMD, Clinvar ve Infevers veri tabanlarında FMF hastalarında bildirilmemiş yeni mutasyonlardı (Şekil 2). Saptanan yeni mutasyonlar bölge spesifik primer-



Şekil 2. HGMD, Clinvar ve Infevers veri tabanında yer almayan, FMF hasta grubumuzda saptanan mutasyonlara ait NGS analiz görüntüleri.

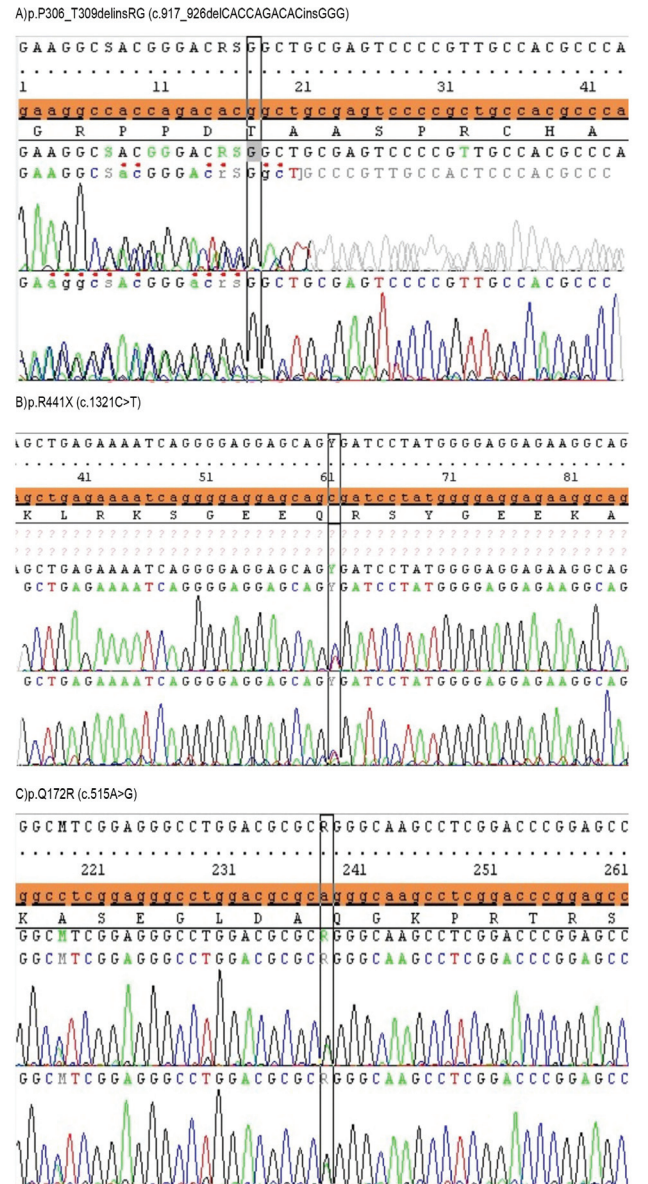
A) p.P306_T309delinsRG

B) p.R441X (c.1321C>T)

C) p.Q172R (c.515A>G)

ler eşliğinde sanger dizileme metodu ile doğrulanarak literatüre katıldı (Şekil 3).

Çalışmamızda, *p.P369S* heterozigot değişimi izlenen 13 hastanın NGS analizi sonrasında 10'unda *p.P369S/p.R408Q* birlikteliği görülmektedir. Hem *p.P369S* mutasyonu hem de *p.R408Q* mutasyonu ACMG 2015 kriterlerine göre "önemi bilinmeyen varyant" olarak sınıflandırılmaktadır ⁽¹⁰⁾. 2014 yılında Güneşçar ve ark. ⁽⁹⁾ tarafından Hatay bölgesinde yapılan 1000 hastalık çalışma grubunda, *p.P369S* ve/



Şekil 3. FMF hasta grubumuzda belirlenen yeni mutasyonlara ait sanger dizi analiz görüntüleri.

veya *p.R408Q* değişimi bildirilmemiştir. Yine 2019 yılında Hageman ve ark.⁽²⁾ *MEFV* genetik incelemesi yapılan 44 hastada, *p.P369S* ve *p.R408Q* değişimlerini homozigot veya heterozigot formda belirlememişlerdir. Bununla birlikte, incelemesi yapılan 44 hastanın üçünde (%18) *p.P369S/p.R408Q* birleşik heterozigotluğu bildirmişleridir. Çalışma grubumuzda, *p.P369S* değişimi %4,4 olarak izlenirken, *p.R408Q* değişimi yalnızca NGS metodu ile ve %3,4 sıklığında, *p.P369S/p.R408Q* birleşik heterozigot formda izlenmiştir. Bu durum söz konusu değişimlerin bölgesel farklılıklarasahip olduğunu düşündürebilir. *p.P369S/p.R408Q* değişiminin yüksek birlikteliği göz önünde bulundurulduğunda bu birliktelik FMF hastalarında klinik ve genetik açıdan anlamlı olabilir ve *p.R408Q* mutasyonu fragment analizinde incelenen mutasyon profiline eklenebilir.

Fragment analizi en sık görülen mutasyonlar açısından etkin ve düşük maliyetli bir yöntem olmasına rağmen, %61 oranında bir hasta grubunda daha geniş kapsamlı yöntem ile ek analize gereksinim vardır (Şekil 1a). Güneşaçar ve ark.⁽⁹⁾ çalışmasında bildirilen *p.R202Q* heterozigot değişiminin hasta ve kontrol grubunda farkı olmadığı da göz önünde bulundurulduğunda bu oran %79'lara ulaşmaktadır (Şekil 1a). Çalışma grubumuzda 22 hastada fragment analizinde izlenmeyen ancak NGS analizinde gözlenen 23 mutasyon [*p.E148V* (n:2), *p.D424E* (n:1), *p.T267I* (n:1), *p.R441X* (n:1), *p.R628K* (n:1), *p.M680V* (n:2), *p.Q172R* (n:1), *p.P306_T309delinsRG* (n:1), *p.R408Q* (n:10), *p.L110P* (n:2), *p.G304R* (n:1)] *MEFV* geninin tamamının incelemesinin gerekliliğini göz önüne sermektedir. Öztekin ve ark.⁽¹¹⁾ 2019 yılında yaptıkları çalışmada, inflamatuvar romatizmal hastalıklarda sosyodemografik özelliklerden bağımsız olarak tanıda gecikmelerin olduğu bildirilmiştir. Tüm gen analizi incelemesi yapılan FMF hastalarında hastalık etkeni mutasyonların gözden kaçırılması ve tanıda gecikmeler önlenemez.

Yapılan bu çalışmada üç temel sonuca ulaşılmıştır. Bunlardan birincisi fragment analizi FMF hastalarının

tanısında sık görülen değişimlerin incelendiği düşük maliyetli bir yöntem olsa da hastaların moleküler tanısını koymada yetersiz kalmaktadır. İkincisi bugün için NGS analiz metodu tanıya yöntem ve yararlılık açısından tercih edilebilir analiz yöntemidir. Yüksek maliyetine rağmen, hasta sonucunu belirleme açısından avantajlı durumdadır. Üçüncü olarak da Türkiye'de çok merkezli FMF hasta çalışma grupları oluşturulup ülkemize ait mutasyon profili çıkarılarak, hastalar düşük maliyetli bölge spesifik mutasyonlar açısından incelemeye alınabilir.

Etik Kurul Onayı: Kayseri Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı alındı (31.01.2020/01)

Çıkar Çatışması: Yoktur

Finansal Destek: Yoktur

Hasta Onamı: Retrospektif çalışma

Ethics Committee Approval: Kayseri City Hospital Scientific Research Evaluation Committee Thesis Application Evaluation Ethics Committee approval was obtained (31.01.2020/01).

Conflict of Interest: None.

Funding: None.

Informed Consent: Retrospective study.

KAYNAKLAR

1. Onen F. Familial Mediterranean fever. Rheumatol Int [Internet]. 2006;26(6):489-96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-005-0074-3> [CrossRef]
2. Hageman IMG, Visser H, Veenstra J, Baas F, Siebert CEH. Familial Mediterranean Fever (FMF): a single centre retrospective study in Amsterdam. Neth J Med. 2019 Jun;77(5):177-82.
3. Ben-Chetrit E, Touitou I. Familial Mediterranean Fever in the world. Arthritis Rheum. 2009 Oct;61(10):1447-53. [CrossRef]
4. Ozdogan H, Ugurlu S. Quarterly Medical Review Familial Mediterranean Fever. Presse Med [Internet]. 2019; Available from: [CrossRef]
5. Sarrabay G, Touitou I. Dominant familial Mediterranean fever. Vol. 56, Rheumatology (Oxford, England). England; 2017. p. 173-5. [CrossRef]
6. Ben-Zvi I, Brandt B, Berkun Y, Lidar M, Livneh A. The relative contribution of environmental and genetic factors to phenotypic variation in familial Mediterranean fever (FMF). Gene. 2012 Jan;491(2):260-3. [CrossRef]
7. Comak E, Akman S, Koyun M, et al. Clinical evaluation of R202Q alteration of MEFV genes in Turkish children. Clin

- Rheumatol. 2014 Dec;33(12):1765-71. [\[CrossRef\]](#)
8. Gumus E. The Frequency of MEFV Gene Mutations and Genotypes in Sanliurfa Province, South-Eastern Region of Turkey, after the Syrian Civil War by Using Next-Generation Sequencing and Report of a Novel Exon 4 Mutation (I423T). J Clin Med. 2018 May;7(5). [\[CrossRef\]](#)
 9. Gunesacar R, Celik MM, Arica V, Elmacioglu S, Ozturk OH. Frequency of MEFV gene mutations in Hatay province, Mediterranean region of Turkey and report of a novel mis-sense mutation (I247V). Gene. 2014 Aug;546(2):195-9. [\[CrossRef\]](#)
 10. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May;17(5):405-24. [\[CrossRef\]](#)
 11. Öztekin C, Doğan İ, Özkara A, Özbolat F, Yılmazel G. Çorum Bölgesinde Yaşayan İnflamatuvar Romatizmal Hastalıkları Olan Kişilerde Tanı ve Tedavi Gecikmesinin Değerlendirilmesi. Konuralp Tıp Derg [Internet]. 2019 Oct 23 [cited 2019 Dec 27];11(3):344-9. Available from: [\[CrossRef\]](#)