



Tıp Fakültesi

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KALITSAL RETİNAL DİSTROFİ HASTALARINDA SAPTANAN GENETİK VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. ŞENOL DEMİR
UZMANLIK TEZİ
İSTANBUL 2024



Tıp Fakültesi

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KALITSAL RETİNAL DİSTROFİ HASTALARINDA SAPTANAN GENETİK VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. ŞENOL DEMİR
UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. BİLGİN BİLGE GEÇKİNLİ

Eş Danışman: Prof. Dr. AHMET ARMAN

İSTANBUL 2024

ÖNSÖZ

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki asistanlık sürecimde bana her türlü desteği veren başta danışmanım Doç. Dr. Bilgen Bilge Geçkinli hocam olmak üzere, Prof. Dr. Ahmet Arman, Prof. Dr. Ahmet İlter Güney, Prof. Dr. Pınar Ata, Uzman Dr. Mehmet Ali Söylemez'e,

İyi bir hekim ve iyi bir akademisyen olmam için tecrübelerini bana büyük bir şevkle aktaran, hem hoca hem de abla olarak mentörlük eden Doç. Dr. Esra Arslan Ateş'e,

Mutlu bir asistan ortamında çalışmak benim için büyük bir avantajdı. Bu süreçte Dr. Ceren Alavanda ve Dr. Hamza Polat başta olmak üzere Dr. Esra Dirimtekin, Dr. Zeynep Münteha Başer, Dr. Ayşenur Ersoy, Dr. Hilal Ceylan, Dr. Onur Hanoğlu, Dr. Vedat Yüce, Dr. Çekdar Kapazan, Dr. Müberra Dağlar, Dr. Samet Dilce, Dr. Cemal Onur Onaran, Dr. Esra Saliha Olgun'a,

Başta sekreterlerimiz Şefika Gevrek, Emine Dabak, Merve Gümüş, laboratuvar sorumlumuz Özlem Yıldırım, bölümümüzün neşe kaynağı personelimiz Reyhan Baş olmak üzere tüm personellerimize bu süreçte benimle uyumlu bir şekilde çalışıp, aile ortamında çalışma fırsatı sundukları için teşekkür ederim.

Son olarak uzun eğitim periyodunda her zaman yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiğim değerli annem, babam, ablam ve benim için her konuda yol gösterici olan abim Mehmet Demir'e çok teşekkür ederim.

TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Kalıtsal retinal distrofiler (KRD), retina pigment epiteli veya fotoreseptörlerin dejenerasyonu ile karakterize ilerleyici genetik bir hastalıktır. Çalışmamızın amacı KRD nedeniyle panele alınarak araştırılan hastaların genetik sonuçlarını klinik bulgularla beraber değerlendirmektir. Ayrıca literatürde Türk populasyonunda KRD'ye yönelik genetik çalışmalar oldukça azdır ve sınırlı sayıda hasta ile yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızın bir diğer önemli amacı da KRD hastalarına Yeni Nesil Dizileme (YND) yöntemi ile genetik tanı koyma oranının daha geniş hasta populasyonu üzerinden değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında KRD tanısı almış 52'si erkek, 42'si kadın toplamda 94 hasta dahil edildi. Hastaların klinik bulguları, aile öyküleri hastaların poliklinik dosyalarından; görüntüleme tetkikleri ise hastane sisteminden araştırılarak kaydedildi. Dahil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan hastaların periferik kanlarından DNA izolasyonu yapıldı. YND yöntemi ile KRD ile ilişkili 141 gen güncel kılavuzlar ve veritabanları kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Hastaların 77 (%81) sinde klinik önemi bilinen 58 (%52,25) patojenik, 39 (%35,14) olası patojenik ve 14 (%12,6) adet klinik önemi belirsiz varyant (VUS) olarak sınıflandırılabilen 111 varyant saptandı. Bunlardan 32 tanesi (%29) daha önce literatürde bildirilmemiş varyantlar olup çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. Hastalardan 29'una Retinitis Pigmentosa (RP) (%30), 10'una Leberin konjenital amorozisi (LKA) (%10,6), 10'una Stargardt (%10,6), 8'ine Usher Sendromu (US) (%8,5), 4'üne Bardet Biedl Sendromu (BBS) (%4,3), 4'üne Bietti Kristalin Korneoretinal distrofi (BKD) (%4,3) tanısı konuldu.

Sonuç: Çalışmamızda hastaların %81'ine tanı konulması YND yöntemiyle KRD ile ilişkili gen paneli analizinin KRD hastalarında oldukça etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Güncel literatürde Türk populasyonunda KRD genetik analizine yönelik çok az sayıda çalışma olduğu için çalışmamız bu açıdan literatüre katkı sağlamaktadır. Ayrıca saptadığımız 32 yeni varyant ile literatürdeki KRD ilişkili varyant spektrumuna katkı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kalıtsal retinal distrofi, Retinitis pigmentosa, Yeni nesil dizileme yöntemi

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

Objective: Inherited retinal dystrophy (IRD) is a progressive genetic disorder characterised by degeneration of the retinal pigment epithelium or photoreceptors. The aim of our study was to evaluate the genetic results of patients who were investigated in a panel for IRD together with clinical findings. In addition, genetic studies on IRD in the Turkish population are very few in the literature and studies with a limited number of patients are available. Therefore, another important aim of our study is to evaluate the rate of genetic diagnosis of IRD patients by Next Generation Sequencing (NGS) in a larger patient population.

Material and methods: A total of 94 patients, 52 males and 42 females, diagnosed with IRD were included in the study. Clinical findings and family history of the patients were obtained from the outpatient clinic files and imaging investigations were obtained from the hospital system and recorded. DNA was isolated from the peripheral blood of patients who met the inclusion and exclusion criteria. Using the NGS method, 141 genes associated with inherited retinal dystrophy were analysed using current guidelines and databases.

Results: In 77 (81%) of the patients, 111 variants were detected, of which 58 (52.25%) were pathogenic, 39 (35.14%) were likely pathogenic and 14 (12.6%) could be classified as Variant of Uncertain Significance (VUS). Of these, 32 (29%) variants were not previously reported in the literature and were included in the literature with our study. Retinitis Pigmentosa (RP) was diagnosed in 29 patients (30%), Leber's congenital amaurosis (LCA) in 10 patients (10.6%), Stargardt's disease in 10 patients (10.6%), Usher Syndrome (US) was diagnosed in 8 patients (8.5%), Bardet Biedl Syndrome (BBS) in 4 patients (4.3%) and Bietti Crystalline Corneoretinal Dystrophy (BCD) in 4 patients (4.3%).

Conclusion: In our study, 81% of the patients were diagnosed, indicating that IRD-related gene panel analysis by NGS method is a highly effective method in IRD patients. In the current literature, there are very limited number of studies on IRD in Turkish population. Since there are very few studies on the genetic analysis of IRD in the Turkish population in the current literature, our study contributes to the literature in this respect. In addition, we contributed to the spectrum of IRD-related variants in the literature with 32 new variants we reported.

Key words: Hereditary retinal dystrophy, Retinitis pigmentosa, Next generation sequencing

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

ÖNSÖZ.....	iii
TÜRKÇE ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLO DİZİNİ.....	viii
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Retina Fizyolojisi.....	5
2.2.1. Retinitis Pigmentosa.....	7
2.2.1.1. Fototransdüksiyon Yolağı	10
2.2.1.2. Görsel Döngü.....	13
2.2.1.3. Silyer Taşıma.....	16
2.2.1.4. Dış segment yapısı.....	19
2.2.1.5. Fotoreseptörler arası matriks.....	20
2.2.2. Leberin Konjenital Amorozisi.....	22
2.2.3. Stargardt Hastalığı.....	23
2.2.4. Usher Sendromu.....	27
2.2.5. Bietti Kristalin Korneoretinal Distrofi.....	29
2.2.6. Bardet Biedl Sendromu.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32

3.1. Hasta Seçimi.....	32
3.2. Verilerin Toplanması.....	33
3.3. Periferik Kandan DNA izolasyonu.....	33
3.4. Yeni Nesil Dizileme (YND) Yöntemi	34
3.4.1. Klinik Ekzom Dizileme (CES) kiti.....	35
3.5. Varyantların Filtrelenmesi ve Analizi.....	36
3.5.1. Varyant değerlendirilmesinde Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) kriterleri.....	38
3.6. Varyantların Segregasyon Analizi.....	41
3.7. İstatiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. Demografik Veriler	42
4.2. Hastaların Genetik Analiz Sonuçları.....	45
4.3. Seçili Olguların Klinik Bulguları ve Genetik Analiz Sonuçları	49
5. TARTIŞMA.....	75
5.1. Retinitis Pigmentosa İle İlişkili Varyantlar.....	75
5.2. Leberin Konjenital Amorozisi İlişkili Varyantlar.....	83
5.3. Stargardt Hastalığı İlişkili Varyantlar.....	84
5.4. Usher Sendromu İlişkili Varyantlar.....	87
5.5. Bietti Kristalin Korneoretinal distrofi ile ilişkili varyantlar.....	88
5.6. Bardet Biedl Sendromu ile ilişkili varyantlar	90
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	93
7. KAYNAKLAR.....	95

Tablolar Dizini

Tablo 1: Retinitis pigmentosa ile ilişkili genler

Tablo 2: Leberin konjenital amorozisi ile ilişkili genler

Tablo 3: Stargardt Hastalığı ile İlişkili Genler

Tablo 4: Usher Sendromu ile İlişkili Genler

Tablo 5: Bardet Biedl Sendromu ile İlişkili Genler

Tablo 6 : Kalıtsal Retinal Distrofi Panelindeki Genler

Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen hastaların Demografik ve Klinik Bilgileri

Şekiller Dizini

Şekil 1: Retina tabakalarının içten dışa dizilimi

Şekil 2: Retinal Rod fotoreseptör hücresinin şematik gösterimi

Şekil 3: Solda sağlıklı insan ve sağda RP hastasının fundus muayenesinde kemik spikül pigmentlerinin görünümü

Şekil 4: RP hastasının optik disk solukluğu, retinal damar atenüasyonu ve retina periferinde 'kemik-spikül' pigment değişikliklerinden oluşan klasik triadı gösteren fundus fotoğrafı

Şekil 5: Fototransdüksiyon yolağının özeti

Şekil 6: CNG kanallarının yapısı ve aktivasyon

Şekil 7: Görsel döngünün özeti

Şekil 8 : Kon hücrelerine özgü olan görsel döngünün şematik gösterimi

Şekil 9: Rod ve kon hücrelerinde silya transportunun şematik gösterimi

Şekil 10: Silya yapısı ve çevresindeki proteinlerin şematik gösterimi

Şekil 11: Fotoreseptörler arası matriksin şematik gösterimi

Şekil 12: Stargardt hastasının fundus fotoğrafı

Şekil 13: Stargardt hastasında saptanan Boğa gözü makulopatisinin görünümü

Şekil 14 : Bietti hastasının Fundus Görünümü

Şekil 15: A) Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş dağılımları

B) Görme şikayetlerinin başlangıç yaşı

Şekil 16: Çalışmaya dahil edilen hastaların akraba evliliği ve aile öyküsü dağılımları

Şekil 17 : Çalışmaya dahil edilen hastalarda saptanan sendromlardaki akraba evliliği dağılım oranları

Şekil 18: A) Hasta sayılarının KRD alt tiplerine göre dağılımı B) Tanı alan hastaların kalıtım şekline göre dağılımı C) Saptanan varyantların tipleri D) Varyantların patojenite sınıflandırılması

Şekil 19: Saptanan varyantların tipleri ve dağılımları

Şekil 20: Hasta 14'ün aile ağacının çizimi

Şekil 21: *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.802-8_810delinsGC varyantının IGV görüntüsü

Şekil 22: Hasta 18'in aile ağacının çizimi

Şekil 23: *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.802-8_810delinsGC varyantının IGV görüntüsü

Şekil 24: Hasta 20'nin aile ağacının çizimi

Şekil 25: *MAK*(NM:001242385) geninde homozigot c.668_671del (p.Asp223Glyfs*11) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 26: Hasta 31'in aile ağacının çizimi

Şekil 27: *KCNV2*(NM_133497) geninde homozigot c.1356+3_1356+6del varyantının IGV görüntüsü

Şekil 28: Hasta 40'in aile ağacının çizimi

Şekil 29: *CNGA1*(NM_001379270.1) geninde homozigot c.947C>T (p.Ser316Phe) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 30: Hasta 44'ün aile ağacının çizimi

Şekil 31: *BBS4*(NM:001252678) geninde homozigot c.587A>G (p.Asp196Gly) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 32: Hasta 47'nin aile ağacının çizimi

Şekil 33: Şekil 30: *ALMS1*(NM:015120) geninde homozigot c.7313C>A (p.Ser2438*) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 34: Hasta 55'in aile ağacının çizimi

Şekil 35: *ABCA4* (NM_000350.3) geninde homozigot c.1554+3_1554+4del varyantının IGV görüntüsü

Şekil 36: Hasta 56'nın aile ağacının çizimi

Şekil 37: *MYO7A*(NM:000260.4) geninde homozigot c.6539T>C (p.Leu2180Pro) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 38: Hasta 62'nin aile ağacının çizimi

Şekil 39: *CNGB3* ve *CNGB1* genindeki varyantların IGV görüntüleri

Şekil 40: Hasta 65'in aile ağacının çizimi

Şekil 41: *RS1*(NM:000330) geninde hemizigot c.52+1G>C varyantının IGV görüntüsü

Şekil 42: Hasta 66'nın aile ağacının çizimi

Şekil 43: *PRPH2*(NM_000322) geninde homozigot c.461_464delinsTGGTCT (p.Lys154Metfs*103) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 44: Hasta 72'nin aile ağacının çizimi

Şekil 45: *ARL6*(NM_001278293) geninde homozigot c.276del (p.Phe92Leufs*9) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 46: Hasta 76'nın aile ağacının çizimi

Şekil 47: *RHO*(NM:000539) geninde heterozigot c.403C>T (p.Arg135Trp) varyantının ve *COL11A2*(NM_080680) geninde heterozigot c.2990G>A (p.Gly997Asp) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 48: Hasta 77'nin aile ağacının çizimi

Şekil 49: *PRPH2*(NM:000322) heterozigot c.470A>G (p.Asp157Gly) varyantının ve *POU4F3*(NM_002700) geninde heterozigot c.979_980del (p.Gln327Glufs*131) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 50: Hasta 78'in aile ağacının çizimi

Şekil 51: *USH2A*(NM:206933) geninde homozigot c.12574C>G (p.Arg 4192Gly) varyantının IGV görüntüsü

Şekil 52: Hasta 83'ün aile ağacının çizimi

Şekil 53: *EYS*(NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantının IGV görüntüsü

Şekil 54: Hasta 85'in aile ağacının çizimi

Şekil 55: *RPI*(NM:006269) geninde homozigot c.109C>T (p.Arg37*) varyantının ve *HMCN1*(NM:031935) geninde homozigot c.12095G>A (p.Gly4032Asp) varyantının IGV görüntüleri

Şekil 56: Hasta 86'nın aile ağacının çizimi

Şekil 57: *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.37C>T (p.Arg13*) varyantı ve heterozigot c.1716T>G (p.Asn572Lys) varyantının IGV görüntüleri

Şekil 58: Rodopsin proteininin genel yapısı üç boyutlu yapısının gösterimi

Şekil 59: *CNGBI*(NM:NM_001297.5) geninde homozigot c.413-1G>A varyantının HSF'de analizinin görüntüsü.

Şekil 60: Ekleme alıcı bölgesindeki c.413-1G>A patojenik varyantının CNGB1 mesajcı RNA üzerindeki etkisinin şematik gösterimi

Şekil 61: *EYS*(NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.

Şekil 62: *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.414-1G>T varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.

Şekil 63: *BBS7*(NM_176824.3) geninde homozigot c.849+1G>T varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.



SİMGELER ve KISALTMA DİZİNİ

ABC: ATP Bağlayıcı Kaset

ACMG: Amerikan Tıbbi Genetik Koleji

atRAL : all-trans-retinal aldehit

B: Benign

BBS: Bardet Biedl Sendromu

BGM: Boğa Gözü Makülopatisi

BKD: Bietti Kristalin Korneoretinal distrofi

CES: Klinik Ekzom Sekanslama

cGMP : Siklik Guanozin Monofosfat

CNV: Kopya Sayısı Değişikliği

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetikasit

ER: Endoplazmik Retikulum

fERG: Flaş elektroretinogram

FAF: Fundus otofloresans

FDA: Gıda ve İlaç İdaresi

GAG: Glikozaminoglikan

GDP: Guanozin Difosfat

GNAT1: Guanin Nükleotid Bağlayıcı Protein, Alfa Dönüştürücü Aktive Polipeptid 1

GTP: Guanozin Trifosfat

HGVS: İnsan Genomu Varyasyon Topluluğu

HSF: Human Splicing Finder

IFT: Flagella içindeki taşıma

IRBP: Fotreseptörler arası Retinoid Bağlayıcı Protein

JBTS: Joubert sendromu

KMÖ: Kistoid Maküler Ödem

KRD: Kalıtsal Retinal Distrofi

LB: Olası benign

LKA: Leberin Konjenital Amorozi

LP: Olası Patojenik

LRAT: Lesitin Retinol Açıl transferaz

MKS: Meckel sendromu

NPHP: Nefronofitizis

OR: Otozomal Resesif

OD: Otozomal Dominant

OKT: Optik Koherans Tomografi

ODRP: Otozomal Dominant Retinitis Pigmentosa

OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man

ORRP: Otozomal Resesif Retinitis Pigmentosa

P: Patojenik

PEDF: Pigment Epitelinden Türetilmiş Faktör

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RETNET: Retinal Bilgi Ağı

RHO: Rodopsin

RP: Retinitis Pigmentosa

RPE: Retina Pigment Epiteli

RPE65: Retinoid İzomerohidrolaz RPE65

ROM1: Çubuk dış segment membran proteini-1

SNV: Tek nükleotit değişikliği

STGH1: Stargardt Hastalığı Tip 1

US: Usher Sendromu

US1: Usher Sendromu Tip1

US2: Usher Sendromu tip 2

US3: Usher Sendromu tip 3

VEP: Vizüel uyarılmış potansiyel

VUS: Klinik Önemi Belirsiz Varyant

YBMD: Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

YND: Yeni Nesil Dizileme

WES: Tüm Ekzom Sekanslama

WGS: Tüm Genom Sekanslama

1) GİRİŞ VE AMAÇ

Kalıtsal retinal distrofiler (KRD), retina pigment epiteli veya fotoreseptörlerin dejenerasyonu ile karakterize ilerleyici genetik bir hastalıktır. Prevalansı 3000 de 1'dir [1]. Hem klinik olarak hem de genetik olarak oldukça heterojen bir hastalık grubudur.

Fotoreseptörlerin dejenerasyonunda etkilenen hücre tipi değişkenlik göstermektedir. Rod (çubuk) hücreleri, kon hücreleri veya hem rod hem de kon hücreleri etkilenebilmektedir. Rod hücrelerinin etkilendiği alt tiplerde (örneğin Retinitis pigmentosa(RP)) öncelikle gece görme kaybı ve periferik görme alanında azalma görülür. Kon hücrelerinin etkilendiği alt tiplerde (örneğin maküler distrofiler) santral görme kaybı görülür. Yaşamın ilerleyen evrelerinde ise hastalık ilerleyici olduğu için hem rod hem de kon hücreleri etkilenir.

Kalıtsal retinal distrofilerin kalıtım paterni değişkenlik göstermektedir. Mart 2024 tarihinde güncel veri tabanı olan Retinal Bilgi Ağı (RETNET)'de kalıtsal retinal distrofilerle ilişkilendirilmiş 281 gen bildirilmiştir [2]. Otozomal resesif (OR), otozomal dominant (OD), X'e bağlı kalıtım ya da mitokondriyal kalıtım görülebilmektedir. Özellikle ülkemiz gibi akraba evliliklerinin sık olduğu toplumlarda OR tipler daha sık görülse de diğer kalıtım tipleri de görülebilmektedir. Aynı gendeki varyantlar farklı fenotiplere yol açabileceği gibi farklı genlerdeki varyantlar da benzer fenotiplere yol açabilmektedir. Ayrıca KRD izole olabileceği gibi bir sendromun bulgularından biri olarak da karşımıza gelebilmektedir [3]. Bu sendromlardan birkaçı Usher sendromu, Bardet Biedl Sendromu, Joubert Sendromu, Alstrom Sendromudur. Yalnızca klinik bulgulara göre hastalık alt tipinin belirlenmesi çok zor olduğu için moleküler genetik analizler bu aşamada oldukça önemlidir.

Gen dizileme yöntemleri olarak Sanger ve Yeni Nesil Dizileme (YND) yöntemleri kullanılmaktadır. Tarihsel süreçte öncelikle Sanger dizileme yöntemi kullanılmış olsa da günümüzde YND yöntemi daha sık kullanılmaktadır. YND yönteminin kullanılması ile birlikte genetik etyolojide rol alan birçok gen aynı anda dizilenmektedir. Bu yöntem hem maliyet etkin olduğu için hem de daha kısa sürede tanı konulmasına yardımcı olduğu için sıklıkla kullanılmaktadır. YND yöntemi kullanılarak CES (Klinik ekzom sekanslama), WES (Tüm

ekzom sekanslama), WGS (Tüm genom sekanslama) yapılabilmektedir. Güncel tanı yöntemleri kullanılarak kalıtsal retinal distrofi hastalarının %70-%80'ine tanı konulmaktadır [4, 5].

Hastalara genetik tanının konulması hastalığın yönetimi, uygun genetik danışma verilmesi, ailede benzer şikayetleri olan bireylerin taranması ve uygun tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Tedaviye yönelik KRD'de hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve görme işlevini geri kazandırmak için günümüzde gen replasman tedavileri uygulanmaya başlanmıştır. 2017 yılında RPE65(Retinoid İzomerohidrolaz RPE65) ile ilişkili Leberin Konjenital Amorozisi'ne yönelik Voretigene Neparvovec (Luxturna®) tedavisinin Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onayı ile birlikte aralarında RP, Stargardt, Usher Sendromunun da olduğu bir çok KRD alt tipine yönelik gen tedavisi çalışmaları yoğun şekilde devam etmektedir [6]. Tüm bu nedenlerden dolayı Kalıtsal retinal distrofilerde moleküler etyolojisinin aydınlatılması büyük önem arz etmektedir.

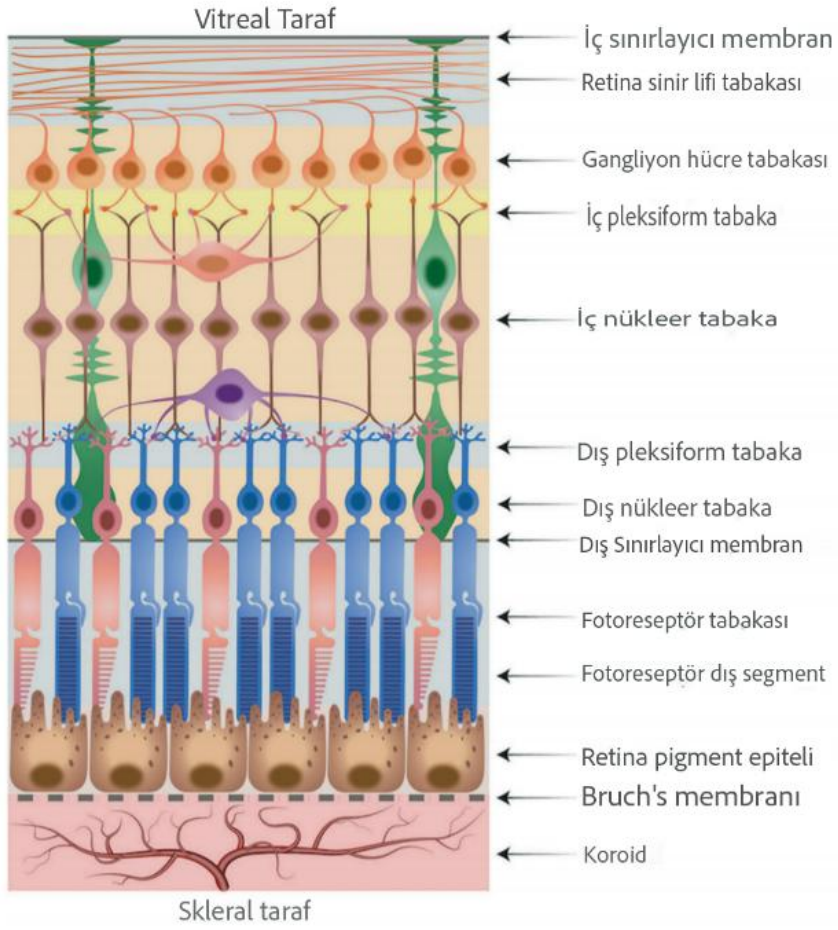
Bu çalışmanın temel amacı retinal distrofi nedeniyle Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda bu etyolojiye yönelik 141 geni içeren Kalıtsal Retinal Distrofi paneli çalışması yapılmış hastaların genetik sonuçlarının retrospektif olarak klinik bulgular eşliğinde değerlendirmektir. Literatürde Türk populasyonunda kalıtsal retinal distrofiye yönelik genetik çalışmalar oldukça azdır ve sınırlı sayıda hasta ile yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızın bir diğer önemli amacı da kalıtsal retinal distrofi hastalarına YND ile genetik tanı koyma oranının daha geniş hasta populasyonu üzerinden değerlendirilmesidir.

2) GENEL BİLGİLER

Retina, gözün arka kısmını kaplayan çok katmanlı bir nöral dokudur. Ana işlevi ışık enerjisinin elektriksel potansiyel değişikliğine dönüştürülmesidir. Oluşan sinaptik uyarı optik sinir aracılığıyla santral sinir sistemine iletilir. Retinadaki hücreler fotoreseptör hücreler, nöronal hücreler ve glial hücreler olmak üzere 3 alt gruba ayrılır [7]. Retinanın ışığa duyarlı elemanları fotoreseptör hücrelerdir. Retina tabakası rod ve konlar olmak üzere iki tür fotoreseptör hücreleri içerir. İnsan gözünde yaklaşık 120 milyon adet bulunan rodlar gece görüşünden sorumluyken, 6 ila 7 milyon adet bulunan konlar renkli ve keskin görüşten sorumludur. En yüksek kon konsantrasyonu makulada bulunur. Makula optik diskin temporalinde yer alır. Makulanın merkezinde ise “Fovea Centralis” olarak isimlendirilen avasküler bölge bulunur [8]. Retinanın periferinde ise rodlar daha zengindir. Özellikle zayıf ışıkta görmede önemli rolleri vardır [9].

Retina histolojik olarak 10 katmana ayrılır (Şekil 1). Bu katmanlar içten dışa doğru ;

- 1) İç sınırlayıcı membran: Retinanın vitröz hümörünü sınırlayan iç yüzeyidir.
- 2) Retina sinir lifi tabakası: Retinanın vitrözden sonraki en içteki ikinci tabakasıdır.
- 3) Gangliyon hücre tabakası: Gangliyon hücre nükleusları yer alır.
- 4) İç pleksiform tabaka: Ganglion hücreleri, bipolar ve amakrin hücreleri ile bu tabakada sinaps yapar
- 5) İç nükleer tabaka: Bipolar hücrelerin, horizontal hücrelerin, amakrin hücrelerin ve müller hücrelerinin hücre gövdelerini içerir.
- 6) Dış pleksiform tabaka: Horizontal ve bipolar hücrelerin dendritleri ile rod ve kon hücrelerinin aksonları arasındaki sinapsın gerçekleştiği tabakadır.
- 7) Dış nükleer tabaka: Rod ve kon hücrelerinin çekirdeklerini içerir.
- 8) Dış sınırlayıcı membran: Rod ve kon hücreleri ile Müller hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantılarla oluşur.
- 9) Rod ve kon tabakası: Rod ve kon hücrelerinin iç ve dış segmentini içerir.
- 10) Retina Pigment epiteli (RPE) : Retinanın en dış tabakasını oluşturur. A vitamini metabolizması, kan-retina bariyerinin korunması, fotoreseptör dış segmentlerinin fagositozu, retinanın dış segmentlerini çevreleyen mukopolisakkarit matriks üretimi ve malzemelerin RPE içine ve dışına aktif olarak taşınması gibi birçok işlevi vardır.



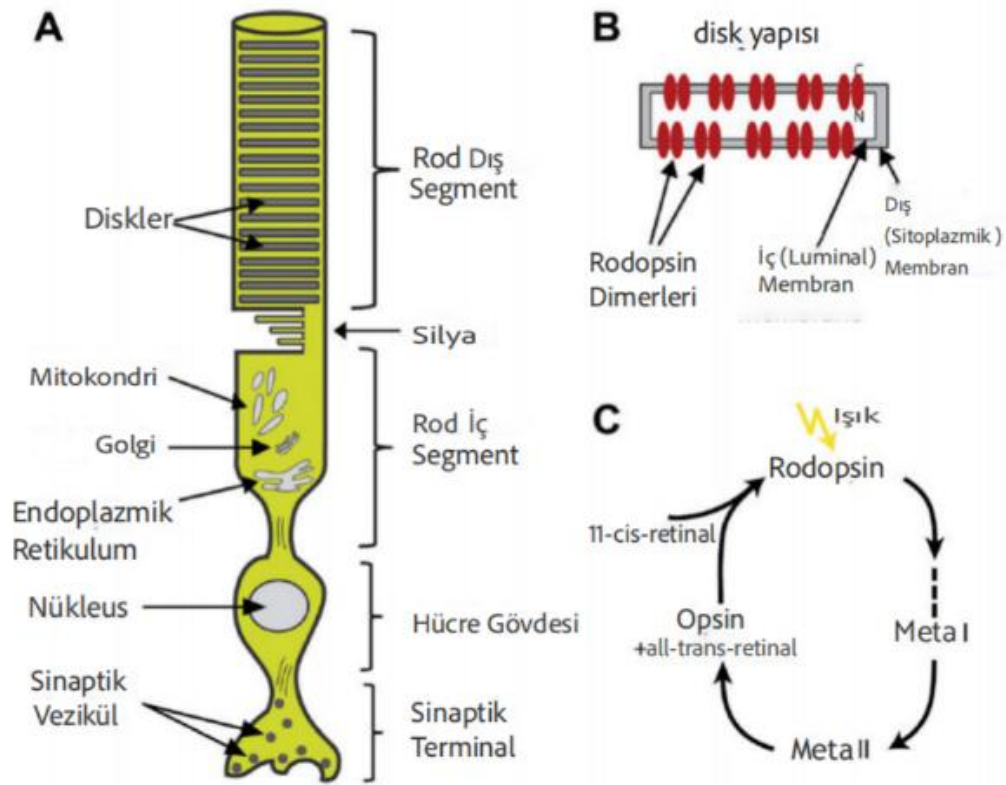
Şekil 1:Retina tabakalarının içten dışa dizilimi [10]'dan uyarlanmıştır.

2.1. Retina Fizyolojisi

Göz retinası, rod hücrelerinin yanı sıra 3 tip kon hücrelerine (kon hücreleri, sahip oldukları opsin pigmentinin doğasına göre farklılaşır, S-kon, M-kon, L-kon) bölünmüş toplam 4 farklı ışığa duyarlı hücreden oluşur. 4 tip ışığa duyarlı hücre, pigmentleri ve hücre içi mekanizmaları sayesinde, ışık enerjisini elektrokimyasal enerjiye dönüştüren transdüksiyon sürecinin odak noktalarıdır. Bu işlev nedeniyle fotoreseptör hücreleri olarak adlandırılır [11].

Bu hücreler tasarımları bakımından benzersiz bir yapıya sahiptirler. Dendritik uçları ışığın göze girdiği yöne bakacak şekilde yan yana sıkıca dizilmiş uzun nöronal hücrelerdir. Bunu, hücrenin çekirdeği için nöronda bir 'şişlik' izler. Retinanın daha derinlerinde hücrenin organelleri, özellikle de hücrenin enerji ihtiyacını karşılayan mitokondriler için bir başka şişlik bulunur. Son olarak, her bir tarafı yaklaşık seksen bin pigment molekülü içeren bin kadar 'disk' dizisi vardır [12] (Şekil 2).

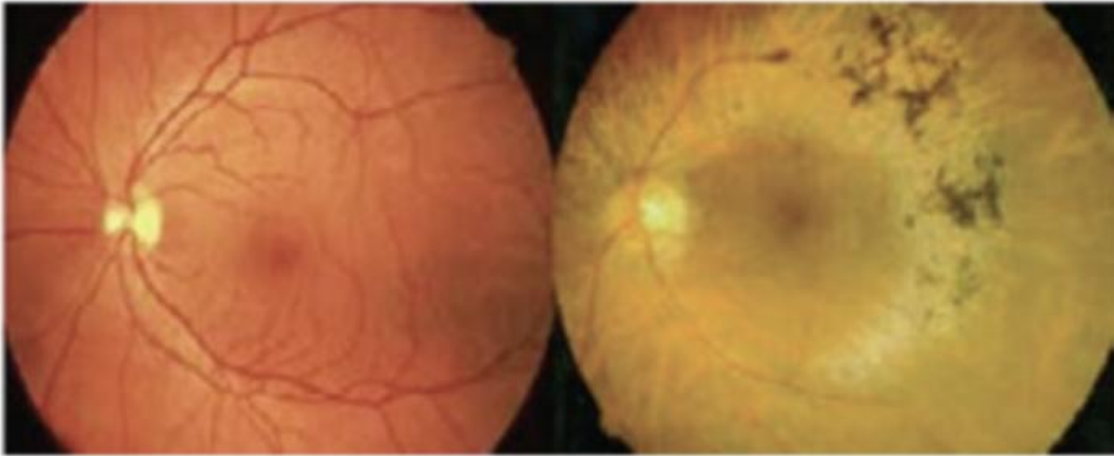
Fotoreseptör hücreleri sabit dış iyon gradyanlarını sürdürmek ve sürekli bir substrat molekülü kaynağı sağlamak için difüzyon yoluyla koroidden beslenirler. Nöronun dendritleri bipolar hücreler tarafından sinapslanır, ancak bu sinapslamanın tam doğası ilgili hücreye bağlıdır. Rod hücreleri özellikle büyük uzaysal toplama gösterir. Örnek olarak bir bipolar hücrenin birçok rod hücresi ile sinaps yapmasını verebiliriz. Bu toplam görme keskinliğini önemli ölçüde azaltsa da, düşük ışık koşullarında görsel hassasiyeti büyük ölçüde artırır. Kon hücreleri ise kendi bipolar hücreleriyle bire bir ilişki kurarak yüksek görme keskinliği yaratır, ancak düşük ışık koşullarında zayıf işlev görür. Retinanın kendi yüzeyi içinde hem kon hücrelerinin hem de rod hücrelerinin konumu arasında da farklılaşma vardır. Kon hücreleri daha odaklıdır; yani, fovea (veya 'area centralis') olarak bilinen ve ışığın tipik olarak kornea, lens ve göz içindeki kırıcı sıvı tarafından odaklandığı bir alanda daha fazla konsantrasyona sahiptirler. Fovea, buraya yönlendirilen çok daha fazla sayıdaki fotonu farklılaştırmak ve algılamak için daha fazla sayıda yüksek keskinlikte hücre gerektirir. Rod hücreleri çevresel olarak uzanır ve çevresel görüşe yardımcı olur (Şekil 2).



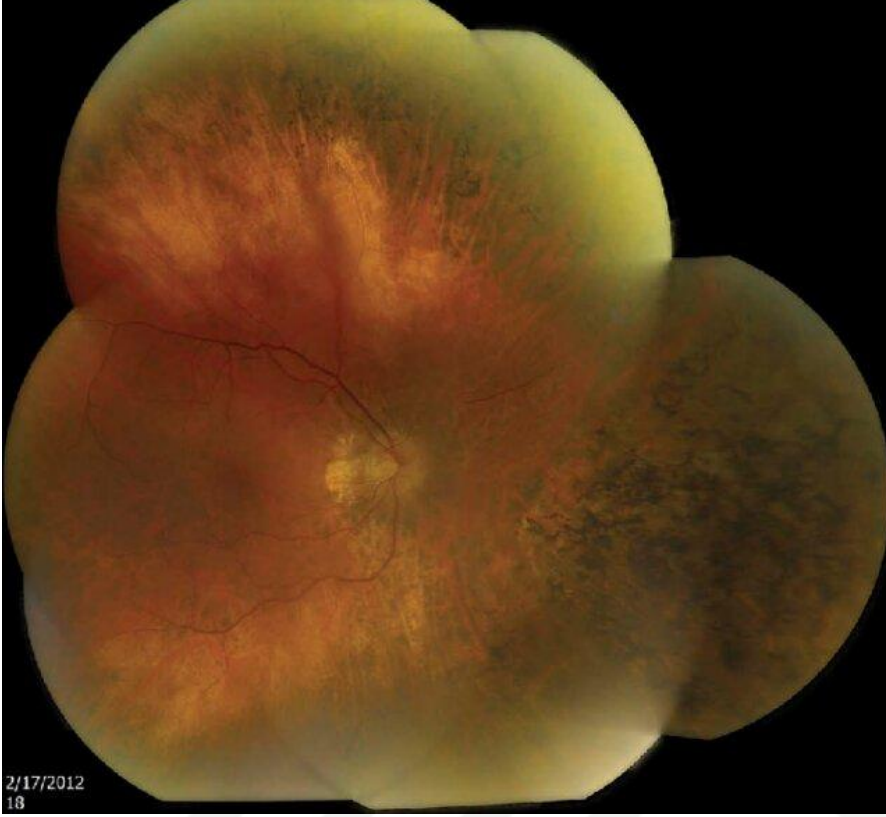
Şekil 2: Retinal Rod fotoreseptör hücresinin şematik gösterimi. A, Rod fotoreseptör hücresi ile etiketlenmiş hücre segmentleri ve ana hücresel elemanlar. B, Tek bir hücrenin membran organizasyonu Rodopsin dimerlerinin yerini gösteren disk. C, Işık aktivasyonundan sonra rodopsinin farklı durumlarının şematik gösterimi [13]'dan uyarlanmıştır.

2.2.1. Retinitis Pigmentosa

RP, KRD'lerin en sık görülen tipidir. Dünya çapında yaygınlığı yaklaşık 3000'de 1'dir [1]. Retinal distrofiler öncelikle rod hücrelerinin ilerleyen süreçte ise kon hücrelerinin dejenerasyonu ile karakterize heterojen ilerleyici bir grup hastalığı tanımlar. Genellikle gece görüş kaybı hastanın fark ettiği ilk belirti olur, bunu görme alanında azalma izler ve sonuçta merkezi görme kaybına neden olur. Bununla birlikte, makula fonksiyonu hastalığın ileri evresine kadar göreceli olarak korunur [14]. RP formlarının çoğu tek gendeki patojenik varyantlar ile ilişkilidir. OD, OR, X'e bağlı, Y'ye bağlı veya daha nadiren mitokondriyal kalıtım paternleri görülür [15]. RP'li hastaların %50-60'ında OR kalıtım görünürken %30-40'ında OD kalıtım görünür. Yapılan bir çalışmada %5-15 lik kısmı oluşturan X'e bağlı kalıtım gösteren hastaların kliniklerinin daha ağır seyirli olduğu gözlenmiştir [16]. Fundus anomalileri genellikle her iki gözü de etkiler ve simetriktir; tipik olarak periferde meydana gelen kemik spikül pigmentasyonu, retinal damarlarda daralma ve mumsu bir optik sinir başı solukluğu gösterirler. Bu bulgular hastalığın ayırt edici özellikleridir [17] (Şekil 3, 4).



Şekil 3: Solda sağlıklı insan ve sağda RP hastasının fundus muayenesinde kemik spikül pigmentlerinin görünümü [18].



Şekil 4: RP hastasının optik disk solukluğu, retinal damar atenüasyonu ve retina periferinde 'kemik-spikül' pigment değişikliklerinden oluşan klasik triadı gösteren fundus fotoğrafı [19].

RP'nin ilk aşamalarında kemik spikül pigment birikimi yoktur veya seyrek, vasküler zayıflama minimum düzeydedir ve optik disk normaldir, muayene sırasında fundus normal görülebilir.

Buna ek olarak, RP'nin tipik bulguları ortaya çıkmadan önce vitreus değişiklikleri gibi spesifik olmayan anormallikler ve küçük, ayırık, soluk renkli lokal lezyonlar olabilir. Ayrıca, fundusta RP için tipik olan kemik spikül pigmentasyonları tüm hastalarda gelişmez ve hiperpigmentasyonun derecesi hastalar arasında değişiklik gösterebilir. RP'de epiretinal membran dahil olmak üzere maküler komplikasyonlar gelişebilir, kistoid maküler ödem (KMÖ), hastaların %50 kadarında bildirilmiştir [20].

RHO geni RP hastalarında saptanmış ilk gen olmasına rağmen otozomal kalıtılan RP'de rol oynayan 100'den fazla gende patojenik varyant olduğu tespit edilmiştir. RETNET veri tabanında OD RP ile ilişkili 31 gen; OR RP ile ilişkili 66 gen ve X'e bağlı kalıtım ile ilişkili 3 gen yer almaktadır [2] (Tablo1). RP ile ilişkili çok sayıda gendeki patojenik varyantlar, hastalarda gözlenen geniş heterojenliği açıklamaktadır ve RP ile ilgili araştırmalar devam ettikçe, ilişkili

olabilecek yeni genler aşamalı olarak eklenmektedir. Ancak, *RHO* hala OD RP ile en çok ilişkili gen olup vakaların %30'undan fazlasını oluşturur ve bunu *PRPH2*, *PRPF31* ve *RP1* takip eder [16].

Tablo 1: Retinitis pigmentosa ile ilişkili genler

OTOZOMAL DOMİNANT KALITILAN RETİNİTİS PİGMENTOSA İLİŞKİLİ GENLER
<i>ADIPOR1, ARL3, BEST1, CA4, CRX, FSCN2, GUCA1B, HK1, IMPDH1, IMPG1, KIF3B, KLHL7, NR2E3, NRL, PRPF3, PRPF4, PRPF6, PRPF8, PRPF31, PRPH2, RDH12, RHO, ROM1, RP1, RP9, RPE65, SAG, SEMA4A, SNRNP200, SPP2, TOPORS</i>
OTOZOMAL RESESİF KALITILAN RETİNİTİS PİGMENTOSA İLİŞKİLİ GENLER
<i>ABCA4, AGBL5, AHR, ARHGEF18, ARL6, ARL2BP, BBS1, BBS2, BEST1, C8orf37, CERKL, CLCC1, CLRN1, CNGA1, CNGB1, CRB1, CWC27, CYP4V2, DHDDS, DHX38, EMC1, ENSA, EYS, FAM161A, GPR125, HGSNAT, IDH3B, IFT140, IFT172, IMPG2, KIAA1549, KIZ, LRAT, MAK, MERTK, MVK, NEK2, NEUROD1, NR2E3, NRL, PCARE, PDE6A, PDE6B, PDE6G, POMGNT1, PRCD, PROM1, PROS1, RBP3, REEP6, RGR, RHO, RLBPI, RP1, RP1L1, RPE65, SAG, SAMD11, SLC7A14, SPATA7, TRNT1, TTC8, TULP1, USH2A, ZNF408, ZNF513</i>
X'E BAĞLI KALITILAN RETİNİTİS PİGMENTOSA İLİŞKİLİ GENLER
<i>OFD1, RP2, RPGR</i>

Bu genlerin her biri nöroretina veya RPE içindeki hayati süreçlerde (örn. fototransdüksiyon kaskadı ve görsel döngü) veya altta yatan bir yapıda (örn. bağlantı silyumu) rol oynayan bir proteini kodlar. Bu nedenle, belirli bir yolakla ilişkili bir gendeki patojenik varyant, tüm yolun bozulmasına neden olabilir. Her ne kadar, ortak bir yolla ilişkili genlerdeki patojenik varyantların neden olduğu RP alt tipleri arasında belirli bir derecede klinik örtüşme beklense de pratikte ortak yolakla ilişkili genlerin patojenik varyantları arasında dahi heterojen bir klinik görülmektedir. Bu nedenle hastalıkların etyolojisini daha iyi anlamak açısından bu yollarda görev alan proteinler arasındaki etkileşimler önem arz etmektedir. Bu yollar şu şekildedir:

2.2.1.1. Fototransdüksiyon Yolağı

Yolaklardan ilki olan fototransdüksiyon yolağı, birbirini izleyen reaksiyonlardan oluşan bir kaskaddir. Opsin molekülünün bir foton tarafından uyarılmasıyla tetiklenir ve sonuçta optik sinir yoluyla görme duyusuna iletilen bir elektrik sinyali kortekse ulaşarak bir görüntünün algılanmasına yol açar. Bu kademelenme rodlar ve konlar arasında büyük ölçüde benzerdir.

Bu yolakta görev alan genlerden ilk keşfedileni *RHO* genidir. *RHO* geni 3q22.1 bölgesinde lokalizedir ve 5 ekzondan oluşur. *RHO* geni rodopsin proteinini kodlar. Bu protein, rod hücrelerinde bulunur ve özellikle düşük ışık koşullarında normal görme için gereklidir. Rod fotoreseptörlerde, görsel bir pigment olan rodopsin, bir A vitamini formu olan 11-cis-retinaldehitin opsin proteinlerine konjugasyonu ile oluşur. Rodopsin, G proteinine bağlı reseptör ailesine aittir ve aktivasyonu, fotonların emilmesi üzerine rod fotoreseptörlerde fototransdüksiyonun ilk adımını başlatır. Rodopsin, rod hücrelerinin iç segmentinde sentezlenir ve daha sonra işlenerek dış segmente taşınır. Fotonun rodopsin içindeki kromofor tarafından yakalanması, 11-cis-retinaldehidin all-trans-retinaldehide izomerizasyonuna ve proteinde konformasyonel bir değişikliğe neden olarak fotoreseptör dış segmentinde meydana gelen aşağı akış fototransdüksiyon kaskadının aktivasyonuna yol açar [21] (Şekil5). Özetlemek gerekirse, bir foton yakalandığında, 11-cis-retinal all-trans-retinal izomerine dönüşür, bu da rodopsinin yapısını fotoaktif metarodopsin II'ye dönüştürür [22]. Metarodopsin II, G proteini olan *GNAT1* (Guanin Nükleotid Bağlayıcı Protein, Alfa Dönüştürücü Aktive Polipeptid 1) geni tarafından kodlanan transdusini aktive eder, bu da 5'-GMP oluşturmak için siklik guanozin monofosfat (cGMP) fosfodiesterazı aktive eder. cGMP fosfodiesteraz dört alt birimden oluşur: bir katalitik alfa alt birimi PDE6A, bir katalitik betasubunit PDE6B ve iki inhibitör gama alt birimi PDE6G. Bu alt birimler sırasıyla *PDE6A*, *PDE6B* ve *PDE6G* genleri tarafından kodlanır. Enzim, aydınlatma üzerine siklik nükleotid kapılı açık kalmasını sağlayan hücre içi sitoplazmik cGMP'yi hidrolize etmek için işlev görür (Şekil 5) [23]. Bu süreç fotoreseptör sitoplazmasındaki cGMP konsantrasyonunu azaltır, plazma zarındaki cGMP kapılı katyon kanallarını kapatır. Bu aşamada *CNGA1* ve *CNGB1* genleri tarafından kodlanan proteinler görev alır. Rodlardaki CNG kanalları üç α -alt birimi (CNGA1) ve bir β -alt biriminden (CNGB1) oluşan heterotetramerler

oluştururken; kon kanalı iki α -alt birimi (CNGA3) ve iki β -alt biriminden (CNGB3) oluşur (Şekil 6) [24]. cGMP kapılı katyon kanallarının kapanması hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki büyük düşüş nedeniyle plazma membranını hiperpolarize eder; plazma membranının bu hiperpolarizasyonu fotoreseptör sinapsında glutamat salınımının azalmasına yol açar.

Fototransdüksiyondan sonra, sistem aşağıdaki adımlarla fotoaktivasyon öncesi duruma döner:

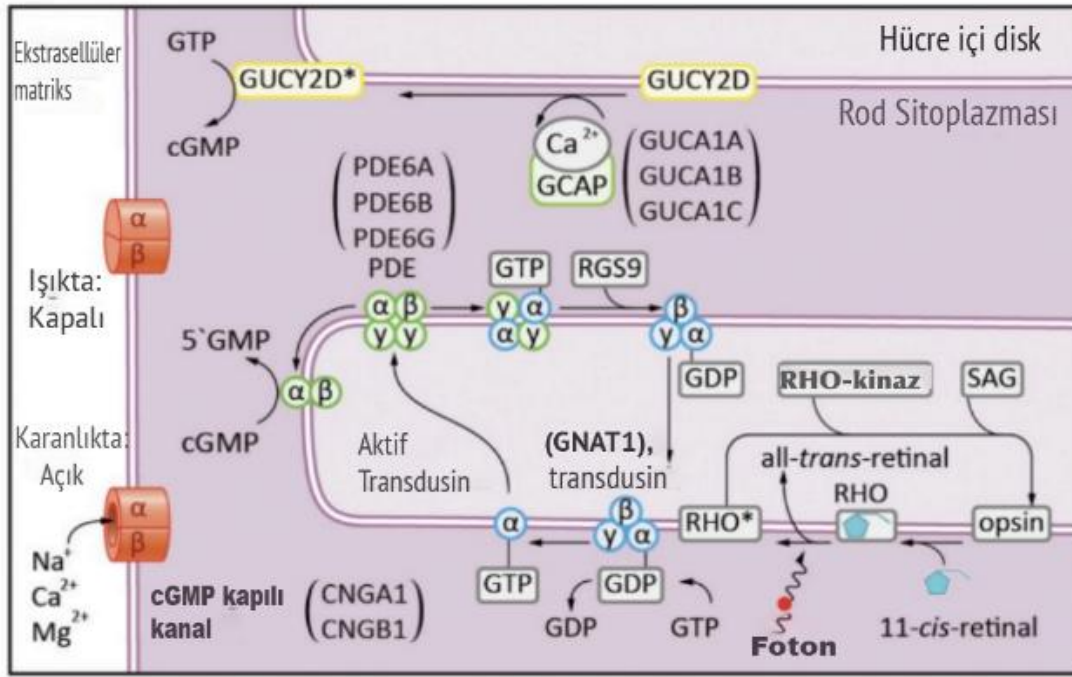
i) metarodopsin II'nin rodopsin kinaz tarafından fosforilasyonu ve ardından transdusini deaktive eden arrestinin (*SAG* geni tarafından kodlanır) bağlanması [25]

ii) all-trans-retinalin görsel pigmentten ayrılması ve görsel döngü yoluyla 11-cis-retinal'e dönüşmesi

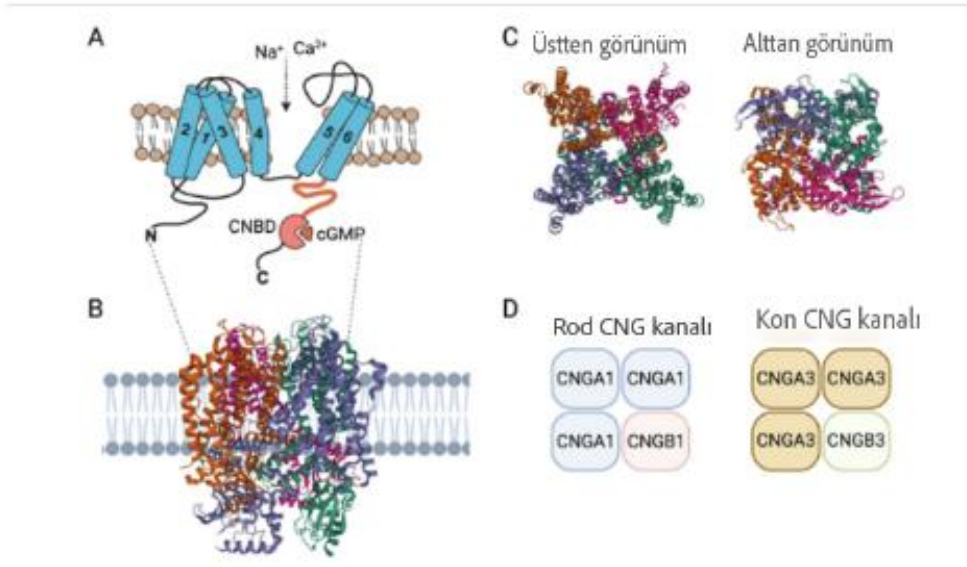
iii) transdusin'in GTPaz hızlandırıcı proteinler tarafından inaktivasyonu (özellikle, RGS9), böylece fosfodiesterazın inaktive edilmesi [26, 27]

iv) *GUCA1A*, *GUCA1B*, *GUCA1C* genleri tarafından kodlanan guanilat siklaz aktive edici protein tarafından aktive edilen guanilat siklaz (*GUCY2D* geni tarafından kodlanır) aktivitesi sonucu hücre içi cGMP'nin normal seviyelere dönmesi [28]

Daha sonra all-trans-retinal opsinden ayrılır, 11-cis-retinal opsine bağlanarak rodopsin üretir ve bu da arrestinden ayrılır. Rodopsin daha sonra protein fosfataz 2A tarafından defosforile edilir. Böylece, karanlıkta rodopsin ağırlıklı olarak defosforile durumdadır.



Şekil 5: Fototransdüksiyon yolağı [16]'dan uyarlanmıştır. Işık iletim yolunun özeti. GDP: guanozin difosfat, GTP: guanozin trifosfat, GMP: guanozin monofosfat, Na⁺: sodyum iyonları, Ca²⁺: kalsiyum iyonları, K⁺ - potasyum iyonları.



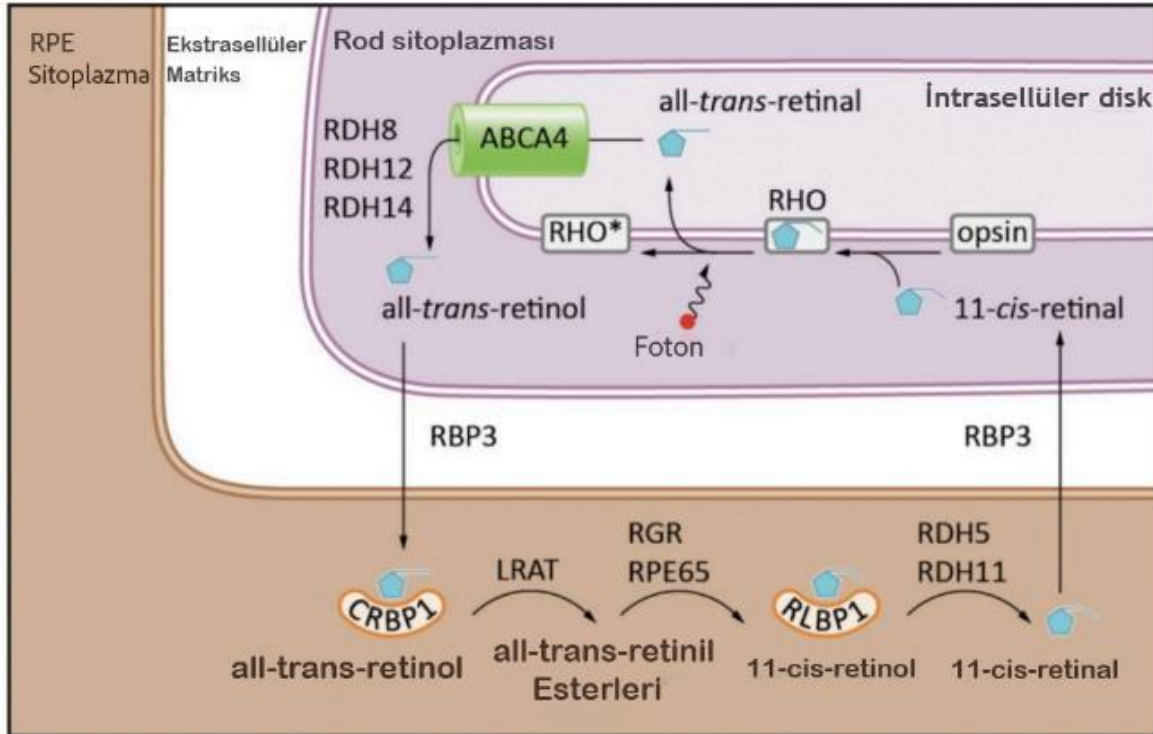
Şekil 6: CNG kanallarının yapısı ve aktivasyonu. (A) CNG kanalı alt birimlerinin membran topolojisi: 1-6, transmembran segment 1-6; C, karboksi terminali; CNBD, siklik nükleotid bağlayıcı alan; N, amino terminali. (B) İnsan çubuk CNGA1/CNGB1 kanal yapısına (PDB 7RHH) dayanan plazma membranına gömülü CNG kanal kompleksi modeli. (C) Heterotetramerik insan çubuk CNGA1/CNGB1 kanal kompleksinin üstten ve alttan görünüşleri. (D) Alt birim çubuk ve konilerden CNG kanallarının bileşimi [24]'den uyarlanmıştır.

Rodopsin, görme sürecinde hayati öneme sahiptir; gen transkripsiyonu, translasyonu, katlanma işlemi veya belirlenen yerlere iletilmesi sürecinde küçük bir hata görme hasarına yol açabilir [29]. *RHO* genindeki patojenik varyantlar OD RP'nin en yaygın nedenidir [21]. RP vakalarının yaklaşık %20-30'u OD RP iken [30], *RHO* genindeki patojenik varyantlar OD RP vakalarının %30-40'ını oluşturmaktadır. Nadiren de olsa *RHO* geninin patojenik varyantları dominant konjenital durağan gece körlüğüne [31] ve OR RP'ye neden olabilir [32]. Bu yolaktaki bir diğer önemli gen olan *PDE6B* geni kromozom 4p16.3 üzerinde yer alır, 22 kodlayıcı ekzon içerir ve 854 amino asit kalıntısı kodlar [33]. *PDE6B* genindeki patojenik varyantlar OR kalıtmalı Retinitis Pigmentosa tip 40 (#OMIM:613801) ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde bildirilmiş OR kalıtmalı RP hastalarının yaklaşık %8 inde *PDE6B* geninde patojenik varyant bildirilmiştir [34]. *CNGB1*'deki varyantlar ise RP'nin nadir bir nedenidir ve OR RP vakalarının yaklaşık %4'ünü oluşturur.

2.2.1.2. Görsel Döngü

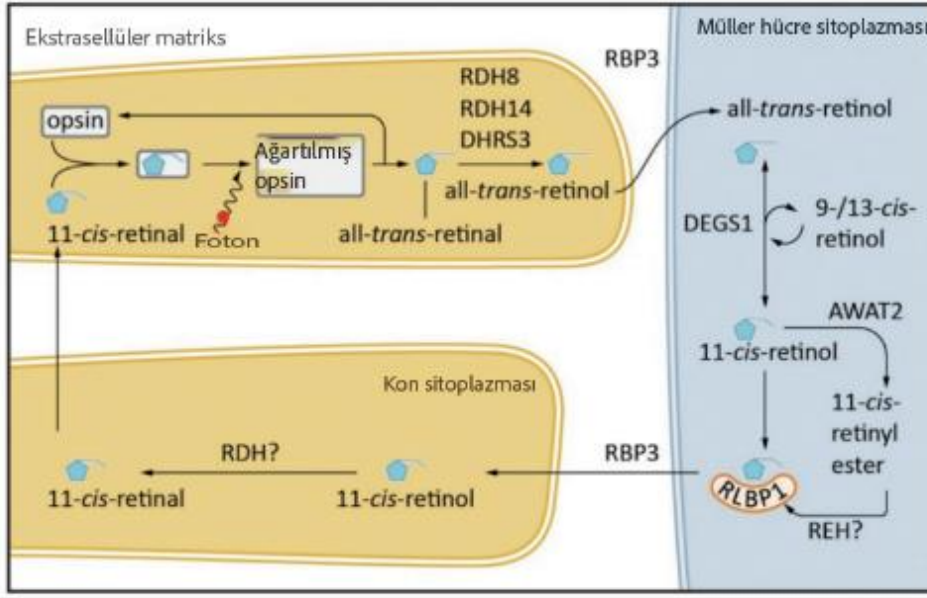
A vitamini türevi 11-cis-retinal, fototransdüksiyon kaskadında önemli bir bileşendir. Diyetle alınan A vitamini olan all-trans-retinol kandan emilir, RPE'ye girer ve 11-cis-retinal'e dönüştürülür. Görsel döngü, fototransdüksiyon kaskadında üretilen all-trans-retinalden 11-cis-retinalin yenilenmesine odaklanan karmaşık bir süreçtir ve fototransdüksiyon ile eş zamanlı olarak gerçekleşir (Şekil 7). All-trans-retinal aktive olmuş hücreden salınır. Görsel pigment dış segment disklerinin lümenine girer ve burada fosfatidiletanolamin ile reaksiyona girerek N-retiniliden-fosfatidiletanolamin oluşturur. ABC (ATP-bağlayıcı kaset) taşıyıcısı ABCR'nin (*ABCA4* geni tarafından kodlanır) flippase aktivitesi aracılığıyla, all-trans-retinal fotoreseptörün

sitoplazmasına salınır, burada all-trans-retinal dehidrojenaz enzimi (*RDH8*, *RDH12* ve *RDH14* genleri tarafından kodlanır) tarafından all-trans-retinole indirgenir. All-trans-retinol daha sonra subretinal boşluğa taşınır, burada fotoreseptörler arası retinoid bağlayıcı proteine (*IRBP*, *RBP3* geni tarafından kodlanır) bağlanır ve RPE'ye taşınır. RPE hücresinin sitoplazmasında, all-trans-retinol hücresel retinol bağlayıcı proteine (*CRBP1* geni tarafından kodlanır) bağlanır ve lesitin-retinol açıltransferazı (LRAT), RPE65 (retinoid izomerohidrolaz olarak da bilinir), retinal G proteine bağlı reseptör (RGR) ve 11-cis-retinol dehidrojenaz (*RDH5* ve *RDH11* genleri tarafından kodlanır) içeren bir kaskad yoluyla yeniden izomerize edilir [35]. Ortaya çıkan 11-cis-retinal daha sonra hücresel retinaldehit bağlayıcı protein tarafından fotoreseptörler arası matrikse taşınır. *RLBP1* geni tarafından kodlanan CRALBP ve daha sonra IRBP tarafından fotoreseptör sitoplazmasına geri taşınır. 11-cis-retinal, fotoreseptöre geri döndüğünde opsin'e bağlanarak yeni bir rodopsin molekülü oluşturur. Ana görsel döngü olarak bilinen bu yol, çubuk hücrelerinde retinal'in yeniden izomerizasyonunu katalize eder.



Şekil 7: Görsel döngünün özeti [16]'dan uyarlanmıştır.

Kon dış segmentlerinde ve müller hücrelerinde ana görsel yoldan başka ikinci bir görsel döngü daha gözlenmektedir (Şekil 8). Bu döngü, 11-cis-retinal'i 20 kat daha hızlı bir oranda yeniden üretir [36], ancak bu döngüdeki proteinlerin tümü henüz tanımlanmamıştır. Bu döngü, kona özgü opsin fotobloklandığında ve all-trans-retinal hücrenin sitozolüne salındığında başlatılır ve burada retinol dehidrojenazlar (*RDH8* ve *RDH14* genleri tarafından kodlanır) ve kona özgü enzim retSDR1 (*DHRS3* geni tarafından kodlanır) tarafından all-trans-retinole indirgenir [37]. Alltrans-retinol daha sonra IRBP'ye bağlanır ve dihidroseramid desaturaz-1'in (*DES1*, *DEGS1* geni tarafından kodlanır) 11-cis-retinolün yanı sıra 9-cis-retinol ve 13-cis-retinol üretmek için all-trans-retinolün doğrudan izomerizasyonunu katalize ettiği Müller hücrelerine taşınır [38]. Çünkü katalize edilen izomerizasyon reaksiyonu DES1 tarafından tersine çevrilebilir, yeni oluşan 11-cisretinol yeniden izomerizasyona duyarlıdır. Hücre, yeniden izomerizasyona karşı bu duyarlılığı azaltmak için iki mekanizma kullanır. İlk olarak, 11-cis-retinol, *AWAT2* geni tarafından kodlanan çok fonksiyonlu O-açıltransferaz (MFAT) tarafından esterleştirilerek 11-cis-retinil-ester oluşturabilir ve ikinci olarak, yeni oluşan 11-cis-retinol CRALBP tarafından yakalanabilir [39]. Şu anda tanımlanmamış bir 11-cis-retinol-ester hidrolaz 11-cis-retinol oluşturmak için 11-cis-retinil-esteri hidrolize eder; bu sadece CRALBP 11-cis-retinolü bağlamak ve DES1 tarafından reizomerizasyonu önlemek için mevcut olduğunda gerçekleşir. CRALBP'ye bağlandığında, 11-cis-retinol fotoreseptörler arası matrikse salınır, burada IRBP'ye bağlanır ve koni dış segmenti tarafından alınır [40]. Burada, bilinmeyen bir RDH, 11-cis-retinolü oksitleyerek 11-cis-retinal oluşturur ve bu da opsine bağlanarak yeni bir pigment molekülü oluşturur. Bu son oksidasyon reaksiyonu kon dış segmentlerinde gerçekleşebilir ancak Rod dış segmentlerinde gerçekleşmez [36], dolayısıyla alternatif görsel döngü kon hücrelerine özgüdür (Şekil 8).



Şekil 8 : Kon hücrelerine özgü olan görsel döngünün şematik gösterimi[16]'dan uyarlanmıştır.

2.2.1.3. Silyer taşıma

Siller, çoğu memeli hücresinin yüzeyinden uzanan ve hücre tipine bağlı olarak hem şekil hem de boyut bakımından değişiklik gösteren ince, uzunlamasına, mikrotübül bazlı çıkıntılardır [41]. Siller iki ana kategoriye ayrılabilir: hareketli siller ve hareketsiz siller (birincil) siller. Hareketli siller, siliyer sıvının hareketini gerektiren gelişmekte olan embriyoda iç organların sol-sağ asimetrisinin oluşturulması, solunum yollarından mukusun temizlenmesi ve sperm hareketliliği gibi süreçlerde kullanılır. Buna karşın, birincil siller hareketli olmayan ökaryotik hücrelerin büyük çoğunluğunda bulunur ve çoğu duyu organında duysal "anten" görevi görür [42, 43]. Siliyer proteinleri kodlayan genlerdeki patojenik varyantlar, vücutta neredeyse her yerde bulunan sillerin varlığı göz önüne alındığında, genellikle birden fazla etkilenen organ ve hücresel süreç içeren sendromik bir fenotip içeren silyopatilere yol açabilir [44].

Fotoreseptör hücreleri, bağlantı silyumu ve ilişkili bazal gövdeden oluşan oldukça özelleşmiş bir duysal silyumun yanı sıra, fototransdüksiyonun gerçekleştiği oldukça özelleşmiş bir yapı olan

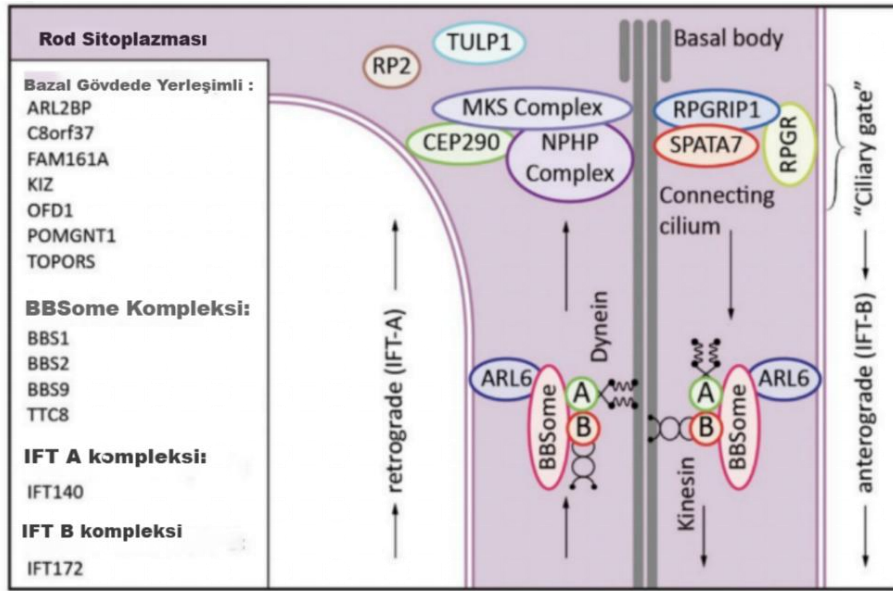
apikal bir dış segment içerir [45]. Dış segmentte protein sentezi olmadığı için, tüm bileşenler iç segmentte sentezlenir ve daha sonra Flagella içindeki taşıma (IFT) ile kolaylaştırılan bir işlem olan bağlantı siliyumu yoluyla dış segmente taşınır. IFT aynı zamanda silleri bir araya getirmek ve korumak için de kullanılır [46, 47]. Bugüne kadar, 30'dan fazla siliyer protein kodlayan gendeki patojenik varyantlar sendromik olmayan retinal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu siliyer proteinlerin çoğu ya IFT işlevinin düzenlenmesi ya da siliyer yapı ile ilgilidir.

IFT, kargoyu hem sillerin tabanından ucuna (yani, kinesin motor proteinleri tarafından yönlendirilen anterograd taşıma) hem de uçtan tabana (yani, dynein motor proteinleri tarafından yönlendirilen retrograd taşıma) taşımak için mikrotübül bazlı motor molekülleri kullanan çift yönlü bir taşıma sistemidir[48]. Bu taşıma sistemi, her bir fotoreseptör hücresinde RHO'nun anterograd taşınması, arrestin ve transdusin'in ışığa bağlı taşınması dahil saniyede binlerce molekülü hareket ettirme kapasitesine sahiptir [49].

Sendromik olmayan RP ile ilişkili birçok gen, siliyer transportun çeşitli yönlerine dahil olan proteinleri kodlar. Örneğin, ARL3 ve RP2 siliyer uçtaki motor ünitelerin lokalizasyonuna aracılık eder [50]. Ayrıca IFT'ye, siliyer kargoyu bağlayan ve taşıyan iki kompleks olan kompleks A ve kompleks B'yi oluşturan IFT proteinleri (IFT140 ve IFT172 gibi) aracılık eder [51]. Ayrıca, BBSome kompleksi kargo ve IFT kompleksi arasında bir adaptör görevi görür [52]. BBSome kompleksi sekiz protein alt biriminden (BBS1, 2, 4, 5, 7, 8 (TTC8), 9 ve 18) oluşur [52]. BBSome alt birimlerindeki patojenik varyantlar genellikle Bardet Biedl sendromuna yol açar ; ancak BBSome alt birimlerini kodlayan genlerden dördü (*BBS1*, *BBS2*, *BBS9* ve *TTC8*) ve *ARL6*'yı (BBSome kompleksini membrana bağlayan bir protein) kodlayan gen, sendromik olmayan RP ile ilişkilidir [53-55].

Taşınacak proteinin siliyer IFT mekanizmasına girişi ve çıkışı, primer siliyumun tabanında bulunan özel bir siliyer yapı olan "siliyer kapı" tarafından düzenlenir; bu yapı perisiliyer partikül difüzyonuna karşı genel bir bariyer oluşturur ve bu nedenle yapısal olarak izole edilmiş dış segmente ve dış segmentten taşınmayı düzenler [56] (Şekil 9). Geçidin işlevine geçiş lifleri ve geçiş bölgesi aracılık eder. Distal uzantılar da denin geçiş lifleri siliyumu plazma membranına

bağlar, siliyer kargonun giriş ve çıkışını kısıtlamak ve seçmek için bir "moleküler elek" görevi gördüğüne inanılan Y şekilli bağlayıcılar içeren modüler bir yapıdır. Buna ek olarak, nükleer gözenek kompleksine homolog olan bir siliyer gözenek kompleksi, silyumun tabanında aktif bir molekül kapısı olarak işlev görür [57]. Meckel/Joubert sendromu (MKS/JBTS) ve nefronoftizis (NPHP) ile ilişkili modüller olarak adlandırılan iki etkileşimli protein modülü, geçiş bölgesini bir araya getirir ve geçit işlevini kontrol eder [58]. Bu modüller birkaç siliopati ile ilişkili proteinden oluşur, yakındaki geçiş bölgesi bileşenleri (örneğin BBSome kompleksi) ve X'e bağlı RP vakalarının %70-90'ını; tüm RP vakalarının ise %10-20'sini oluşturan *RPGR* geni tarafından kodlanan proteini içeren bir kompleks ile etkileşime girer [56]. *RPGR* proteini, *RPGR* etkileşimli protein 1 (*RPGRIP1*) tarafından bağlantı silyumuna tutturulur ve bunun lokalizasyonu başka bir silyer protein olan spermatogenez ile ilişkili protein 7 (*SPATA7*) gerektirir. *RPGR-RPGRIP1-SPATA7* kompleksindeki kusurlar spesifik opsinlerin anormal lokalizasyonuna yol açar; bu nedenle bu kompleksin spesifik opsinlerin taşınmasında rol oynadığına inanılmaktadır [59].



Şekil 9: Rod ve kon hücrelerinde silya transportunun şematik gösterimi[16]'dan uyarlanmıştır.

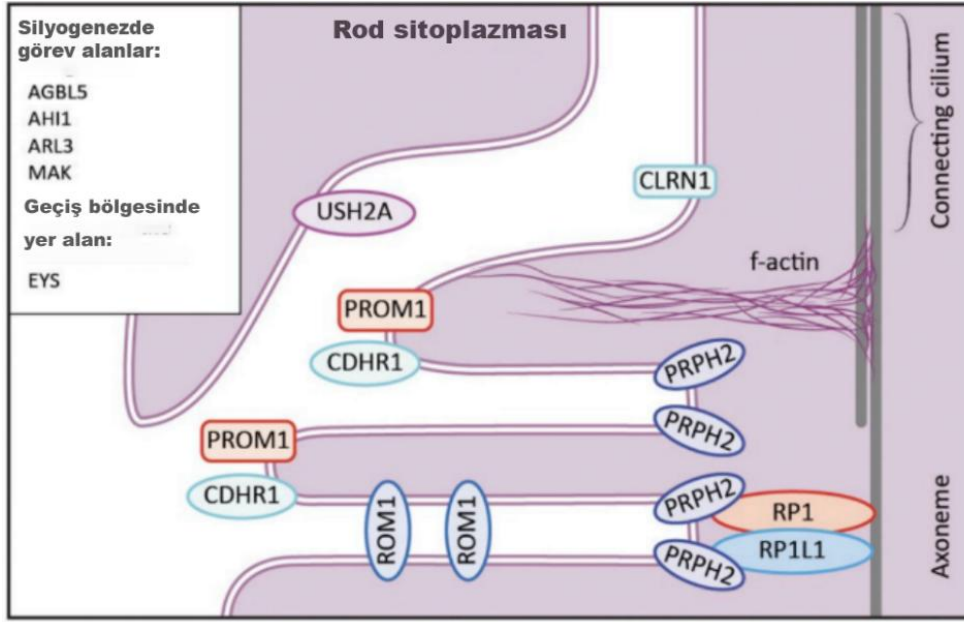
2.2.1.4. Dış Segment Yapısı

Fotoreseptör hücresinin silyumu, bağlantı silyumu ve dış segmentten oluşur. Dış segment rod hücrelerinde hücre içi disk yığınlarından veya kon hücrelerinde lamellerden oluşan oldukça özelleşmiş bir bölme içerir. Sendromik olmayan RP'nin bazı alt tipleri, dış segment disklerinin gelişimi veya oryantasyonunda rol oynayan proteinlerle ilişkilidir [60].

Dış segment diskleri, plazma zarındaki çıkıntılar olarak bağlantı silyumundan gelişir ve daha sonra hücre içi diskler yığını oluşturmak üzere iç kısma transfer edilir [61]. Bazal aksonemal mikrotübüllerde bulunan F-aktin mikrofilamentleri, yeni disk oluşumunun başlatılması için gereklidir [60]. RP ile ilişkili gen *FSCN2*, F-aktin filamentlerini çapraz bağlayan ve demetleyen retinal fascin homolog 2'yi (*FSCN2*) kodlar [62]. Periferin-2 (*PRPH2*) dış segment disk kenarının oluşumunda rol oynar ve *PRPH2* kaybı dış segment disklerinin yokluğuna yol açar. *PRPH2*'nin ayrıca disk stabilitesinde de rol oynadığı öne sürülmüştür [60].

Salinas ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fotoreseptör silyumunun çok sayıda ektozom salabildiğini bildirmiştir [63], yakın zamanda primer silyalarda tanımlanan bu sürece benzer şekilde, silyer G proteinine bağlı reseptörler aktin aracılı ektositoz yoluyla hücre dışı sinyale uygun veziküller içinde gönderilir [64]. *PRPH2* bu süreci uygun seviyede tutarak tutulan ektozomların dış segment disklerine dönüşmesini sağlar [63]. *PRPH2* oluşumu, rod dış segment membran proteini-1 (*ROM1*) proteini tarafından düzenlenir ve böylece disk içselleştirme(internalization) sürecini düzenler [65]. Dış segment disk oluşumunun başlatılması için yeni oluşan disk kenarına lokalize olan membrana bağlı protein prominin-1 (*PROM1*) gereklidir [60] (Şekil 10). *CDHR1* geni tarafından kodlanan Cadherin-related family member 1 de disk kenarı oluşumuna katılır ve bu süreçte *PROM1* ile birlikte görev almaktadır [66].

Fotoreseptöre özgü sitozolik RP1 proteini silyer aksonem ile ilişkilidir ve dış segment morfogenezi için gereklidir [67]. Böylece, RP1 dış segment diskleri ve aksonem arasında bağlantı kurarak dış segment disk oryantasyonunda rol alır. Son olarak, RP1, benzer bir lokalizasyon modeline sahip olan ve aynı zamanda dış segment morfogenezi için gerekli olan RP1L1 proteini ile sinerjik bir etkileşime sahiptir [68].



Şekil 10: Silya yapısı ve çevresindeki proteinlerin şematik gösterimi[16]'dan uyarlanmıştır.

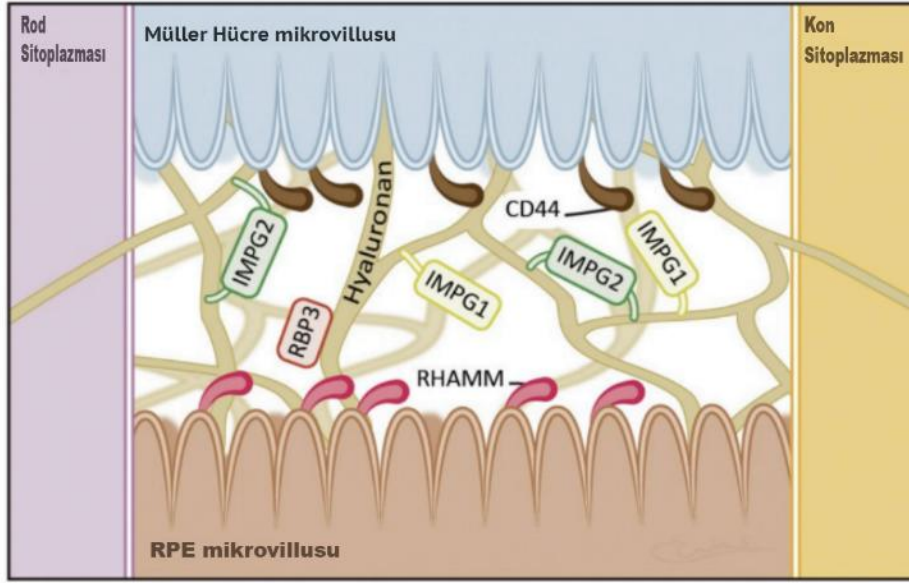
2.2.1.5. Fotoreseptörler arası matriks

Fotoreseptörler arası matriks, dış sınırlayıcı membrandan yani müller hücrelerinin bazal uçlarından RPE'nin apikal yüzeyine kadar uzanan subretinal boşluğu doldurur. Fotoreseptör hücrelerinin iç ve dış segmentleri de bu boşluğa gömülüdür [69]. Fotoreseptörler arası matriksin, retinal metabolizma; RPE'ye retinal yapışma; hücreler arası iletişimin sağlanması; matriks döngüsü; fotoreseptör hizalanması; büyüme faktörü sunumu ve fotoreseptör hücrelerine oksijen ve besin sağlanmasının düzenlenmesi gibi çok önemli rolleri vardır [70, 71].

Fotoreseptörler arası matriks, fotoreseptörler ve RPE hücreleri tarafından salgılanan proteinler ve karbonhidratlardan oluşur [72] (Şekil 11). Bu matriksin temel bileşenleri proteoglikanlar, hyaluronik asit, kolajen ve elastin lifleri, fibronektin, fibrillin, lamininler ve fibulinler gibi proteinlerdir. Hyaluronik asit polimerleri, üç boyutlu bir örgü ağı oluşturmak için birbirine bağlanan son derece büyük polisakkaritler oluşturur. Bu ağ, CD44 aracılığıyla müller hücrelerine

ve RHAMM (hyaluronik asit aracılı hareketlilik için reseptör) tipi bağlanma motifleri içeren proteinler aracılığıyla RPE'ye bağlanır. Ayrıca SPACR, SPACRCAN, pigment epitelinden türetilmiş faktör (PEDF) ve IRBP gibi diğer hücre dışı matris bileşenleri de RHAMM bağlayıcı motifler içerir ve hyaluronik asit ağıyla bağlantılıdır [69, 73]. RP ile ilişkili üç gen (*IMPG2*, *RBP3* ve *EYS*) hiyalüronik asit ağına bağlanan proteinleri kodlar [74]. *IMPG2* geni tarafından kodlanan SPACRCAN hem hyaluronik asit hem de kondroitin sülfatı bağlayan bir proteoglikandır ve fotoreseptörler arası matrisi organize etmek ve fotoreseptör dış segmentinin büyümesini ve bakımını düzenlemek de dahil olmak üzere çeşitli işlevsel roller oynar [75, 76]. *RBP3* geni tarafından kodlanan IRBP fotoreseptörler arası matrikste ve görsel döngüde rol oynar.

İnsanlarda *EYS* geni, *Drosophila eyes shut* proteininin insan ortologunu kodlar ve retinada ifade edilen en büyük genlerden biridir. Ortaya çıkan protein, glikozaminoglikan yan zincirlerinin bağlanması için birkaç bölge içerir; *Drosophila*'da bu protein hücre dışı bir proteindir [77, 78]. İnsan ve *Drosophila* ortologları arasındaki yüksek homoloji derecesi, insan proteininin hücre dışı matrikste de işlev gördüğünü göstermektedir. Bununla birlikte, insanlarda dört izoformu olan bu protein [79], sitoplazmadaki bölmelere ve bağlantı silyumunun aksonemine lokalize olabilir; ayrıca Lu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada zebra balığında *EYS* ifadesinin silinmesi, dış segment proteinlerinin yanlış lokalizasyonuna neden olarak siliyer taşımada işlevsel bir rol olduğunu düşündürmektedir [80]. Ayrıca posttranslasyonel modifikasyonlar da proteinin belli konumlara hedeflenmesini sağlar. Son olarak, RP1 proteini ayrıca hyaluronik asit bağlayıcı motifler içerir ve fotoreseptörün plazma membranı ile birleşirse hyaluronik asit iskelesi ile etkileşime girebilir.



Şekil 11: Fotoreseptörler arası matriksin şematik görünümü[16]’dan uyarlanmıştır.

2.2.2. Leberin Konjenital Amorozi

Leberin konjenital amorozi (LKA), bebeklik döneminde görülen en ciddi KRD formudur. İlk olarak 1869’da Theodor Leber tarafından konjenital başlangıçlı görme kaybı, amarotik pupil ve nistagmusu sahip çocuklar üzerinde yapılan çalışmada bildirilmiştir [81]. Tipik olarak yaşamın ilk aylarında derin bir görme eksikliği, fiksasyon yokluğu ve fotofobi, gece körlüğü, nistagmus, gezici göz hareketleri ve okülojijital işaret dahil olmak üzere bir dizi başka belirti ve semptomla birlikte fundusun oldukça değişken görünümü ile karakterizedir [82]. Daha hafif bir form olan erken başlangıçlı şiddetli retinal distrofide genellikle başlangıç yaşı ilk beş yaştır, görme keskinliği üzerinde daha az şiddetli bir etkiye sahiptir ve farklı genotip-fenotip korelasyonlarına göre nispeten daha korunmuş tam alan elektroretinogram (fERG) yanıtları vardır [83].

LKA, 1/30.000 ila 1/81.000 arasında değişen bir prevalans ile tüm KRD’lerin yaklaşık %5’ini temsil etmektedir [84]. Hastaların etnik kökeni patojenik varyantların sıklığını etkileyebilir; *CEP290*, *GUCY2D* ve *RPE65*’teki patojenik varyantlar yaklaşık %10 prevalans gösterir ve genellikle Kafkas popülasyonlarında daha sık görülür [85]. Buna karşılık, LKA vakalarının %13,6’sı ile ilişkili olan *CRB1* genindeki patojenik varyantlar, Çin popülasyonunda önde gelen genetik neden olarak bildirilmiştir ve bunu *GUCY2D*’deki patojenik varyantlar takip etmektedir [86]. Tanımlanan genler LKA vakalarının yaklaşık dörtte üçünü oluşturmaktadır ve

RETNET'ten alınan Mart 2024 tarihli son verilerde LKA ile ilişkili 26 gen bulunmaktadır. Bunlardan 23 tanesi OR kalıtılırken OD kalıtılan 3 gen vardır [2] (Tablo 2).

LKA ile ilişkili patojenik varyantların çoğunluğu OR geçişlidir. Görme ile ilgili tüm moleküler mekanizmalar etkilenebilir: Fototransdüksiyon kaskadı (*GUCY2D*, *AIPL1*, *RD3*, *KCNJ13*), retinoid döngüsü (*RPE65*, *LRAT*, *RDH12*), silyer transport (*LCA5*, *CEP290*, *RPGRIP1*, *SPATA7*, *TULP1*, *IQCBI*), fotoreseptör morfogenezi (*CRX*, *CRB1*, *GDF6*, *PRPH2*), guanin sentezi (*IMPDH1*) ve fotoreseptör diferansiyasyonu (*OTX2*) [81].

Retinoid döngüsünde önemli rolü olan Kromozom 14q24.1 üzerinde lokalize olan *RDH12* geni 7 ekzonludur ve genomik DNA'da 13 kbp'lik bir alan kapsar. Kodladığı 316 aminoasitten oluşan 35 kD boyutundaki Retinol dehidrojenaz 12 proteini ağırlıklı olarak fotoreseptörün iç segmentinde ifade edilir ve all-trans retinali all-trans retinol'e dönüştürerek retinoid döngüsüne katılır. *RDH12* genindeki patojenik varyantlar OMIM'de (#608830) Leberin Konjenital Amorozisi tip 13 ile ilişkilendirilmiştir. *RDH12* genindeki patojenik varyantlar LKA vakalarının yaklaşık %3-10'unu oluşturmaktadır [83]. *RDH12* ilişkili LKA'da ilk on yılda zayıf da olsa görme fonksiyonu devam ederken özellikle ikinci on yılda ilerleyici görme kaybı gözlemlenmektedir [87].

Fotoreseptör morfogenezi için önemli rollere sahip olan *CRB1* geni ise, kromozom 1q31.3 üzerinde lokalizedir, retina gelişiminde yeterli morfogenezi ve polariteyi korumak için fotoreseptörlerin iç segmentinde ve müller hücrelerinde eksprese edilen Crumbs homologue 1'i kodlar [88]. Bu nedenle, *CRB1* genindeki patojenik varyantlar RP, foveal retinoskizis, maküler distrofi ve Leberin konjenital amorozisi tip 8 dahil olmak üzere farklı retinal distrofi tipleriyle ilişkilendirilmiştir. LKA vakalarının yaklaşık %9-17'si *CRB1* patojenik varyantlarıyla ilişkilendirilmiştir [83].

Tablo 2: Leberin konjenital amorozisi ile ilişkili genler

OTOZOMAL RESESİF KALITILAN LEBERİN KONJENİTAL AMOROZİSİ İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>AIPL1</i> , <i>CABP4</i> , <i>CCT2</i> , <i>CEP290</i> , <i>CLUAP1</i> , <i>CRB1</i> , <i>CRX</i> , <i>DTHD1</i> , <i>GDF6</i> , <i>GUCY2D</i> ,

IFT140, IQCB1, KCNJ13, LCA5, LRAT, NMNAT1, PRPH2, RD3, RDH12, RPE65, RPGRIP1, SPATA7, TULP1

**OTOZOMAL DOMİNANT KALITILAN
LEBERİN KONJENİTAL AMOROZİSİ İLE İLİŞKİLİ GENLER**

CRX, IMPDH1, OTX2

2.2.3. Stargardt Hastalığı

Strasbourg Üniversitesi'nden Karl Bruno Stargardt, 1909 yılında iki aileden yedi hastanın fundus çizimlerini de içeren en kapsamlı klinik tanımını ilk yayınlayan kişi olarak kabul edilmektedir [89]. Bu makalede Stargardt, hastaların başlangıçta konları, ardından RPE'yi ve daha sonra da altta yatan koroidi etkileyen genetik, nöroepitelyal bir hastalığa sahip olduğu sonucuna varmıştır.

Stargardt hastalığı (STGH), 8000-10 000'de 1 prevalans ile hem yetişkinlerde hem de çocuklarda en sık görülen kalıtsal makula distrofisidir [90]. Hem klinik olarak hem de genetik olarak oldukça heterojendir [91]. Stargardt hastalığı tip 1 (STGH1), *ABCA4* geninde hastalığa neden olan patojenik varyantlarla ilişkili OR kalıtım şekline sahiptir. Hastalarda diskromatopsi ve santral skotom dahil olmak üzere bilateral santral görme kaybı, karakteristik maküler atrofi ve arka kutupta retina pigment epiteli (RPE) seviyesinde sarı-beyaz benek bulguları gözlenir (Şekil 12).



Şekil 12: Stargardt hastasının fundus fotoğrafı, makuladan dışarı doğru uzanan sarımsı benekler görülmektedir [19].

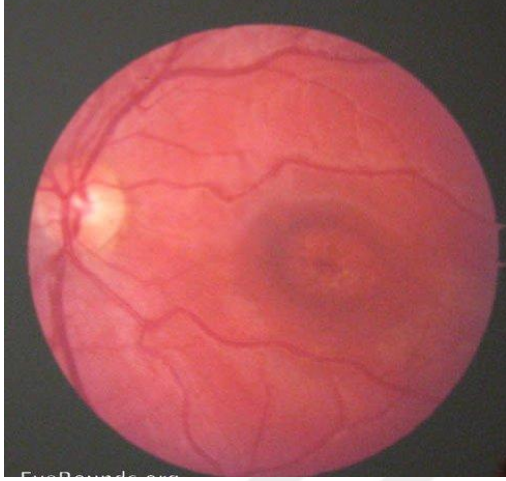
Başlangıç en sık çocukluk çağında, ikinci sırada erken yetişkinlikte ve en az sıklıkla geç yetişkinlikte olup, daha iyi bir prognoz genellikle daha geç başlangıçla ilişkilidir [92, 93]. Retinal fonksiyon ve yapıda zaman içinde yavaş ilerleyen bir kayıp söz konusudur; ancak hem retina içinde hem de retina dışında aynı aile bireyleri arasında dahi belirgin bir değişkenlik vardır. Stargardt Tip 1 (STGH1) 'in "klasik" bulgusu olarak, merkezi görme kaybı tipik olarak ergenlik ile genç yetişkinlik arasında belirgin hale gelir. Bununla birlikte, başlangıç yaşı büyük ölçüde değişir, bireylerin bir kısmı yaşamlarının 4. ve 7. on yılları arasında gecikmiş görme kaybı yaşamaya başlar [94, 95]. Hastalığın tam başlangıç yaşını belirlemek genellikle zordur, Çünkü birçok hasta, özellikle de çocuklar, görme bozukluklarının farkında olmayabilir veya foveanın işlevsel olarak korunması nedeniyle merkezi görmeleri korunmuş olabilir [96, 97]. Genel olarak, yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkan *ABCA4* ile ilişkili retinopati alt tipleri daha hızlı ilerleme eğilimindeyken, daha geç başlangıç yaşı daha hafif bir prognoz ile ilişkilidir [98, 99]. *ABCA4* ile ilişkili retinopatinin ilk semptomları tipik olarak merkezi veya perisantral görme kaybıyla başlar ve hastalığın şiddeti ilerledikçe karanlık adaptasyonunda zorluk içerebilir [100].

Başta genetik modifiye ediciler ve çevre olmak üzere epigenetik faktörlerin fenotipi etkilediği düşünülmektedir [101, 102]. Stargardt Hastalarının çoğunda OR kalıtılan *ABCA4* geninde patojenik varyantlar görülse de OD kalıtım paternine sahip *ELOVL4* ve *PROM1* genlerinde de patojenik varyantlar bildirilmiştir [103, 104] (Tablo 3). STGD1, *ABCA4*'teki biallelik varyantların neden olduğu OR bir hastalık olmasına rağmen [105], kapsamlı bir aile araştırması yapılırken çeşitli faktörlerin göz önünde bulundurulması ve bir soyağacı oluşturmak gerekir. Bu faktörlerden biri klinik heterojenliğin olmasıdır. Fenotip olarak *ABCA4* ile ilişkili retinopatiye benzeyen diğer genlerin neden olduğu birçok retina hastalığı mevcuttur. Bir diğer faktör, merkezi görme kaybı da dahil olmak üzere geç başlangıçlı STGD1 ile örtüşen semptomlar nedeniyle, özellikle de STGD1'li ailelerde yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) prevalansının daha yüksek olduğu bildirildiği için, aile öyküsünün değerlendirilmesinde YBMD olan akrabalar mutlaka sorgulanmalıdır [106].

ABCA4 ilişkili retinopatilerin kliniği heterojenlik göstermesine rağmen hastalarda 3 tipik bulgu gözlenmektedir. Birincisi, merkezi makuladan kaynaklanan hücresel katmanların ilerleyici bozulmasıdır, *ABCA4* ile ilişkili retinopatinin ana özelliğidir ve zaman içinde görsel bozulmanın başlıca nedenidir [107, 108]. Bir diğer tipik bulgu fundus beneklerinin görülmesidir. RPE lipofusin birikiminin artması retina boyunca gerçekleşir; ancak bu süreç *ABCA4* ile ilişkili retinopatinin en tanınabilir özelliklerinden biri olan beneklere yol açarak lokal olarak da ortaya çıkabilir. Üçüncü tipik özellik ise *ABCA4*-ilişkili retinopatide optik siniri çevreleyen proksimal dokunun hastalık değişikliklerinden korunmuş olduğunun gözlemlenmesidir [109]. *PRPH2* ve *ROM1*-ilişkili patern distrofi ve *RDH12*-ilişkili LKA başta olmak üzere diğer hastalıklarda da *ABCA4*-ilişkili retinopatideki kadar tutarlı olmasa da benzer bulgu gösterdiği bildirilmiştir [110]. Bu bölgenin *ABCA4*-ilişkili retinopatide hem yapısal hem de işlevsel olarak korunması erken evrede yaygın olarak gözlenirken ilerleyen hastalık aşamalarında giderek kaybolur; ancak bu durumun etiyolojik temeli bilinmemektedir.

Bu 3 bulgu dışında kliniğe başvuran *ABCA4* ile ilişkili retinopati vakalarının ~%20'sinde Boğa gözü makülopatisi (BGM) evresi görülmektedir. BGM merkezi makulada başlayan dairesel olarak sınırlı bir atrofi bölgesi olarak tanımlanmıştır (Şekil 13). BGM aşaması tüm üçlü

özelliklerin gelişiminden önce gelir bu nedenle bu aşamada teşhis etmek oldukça zordur. Ayrıca, BGM fenotipinin örtüşen varyasyonları birçok kalıtsal maküler hastalıkta ve hidroksiklorokin toksisitesi, bulaşıcı hastalıklar ve akut yaralanmalar dahil olmak üzere genetik olmayan durumlarda gözlenebilir ancak *ABCA4* ile ilişkili retinopatide gözlenen BGM genellikle maküler otofloresans (RPE lipofusin) seviyelerinin ölçülmesiyle ayırt edilebilir [111].



Şekil 13: Stargardt hastasında saptanan Boğaz gözü makulopatisinin görünümü [112].

ABCA4 geni 1p22.1 kromozom bölgesinde lokalizedir. 50 ekzonlu olan bu gen 2273 aminoasitten oluşan protein kodlar. Bu gen tarafından kodlanan membranla ilişkili protein, ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcılarının süper ailesinin bir üyesidir. ABC proteinleri çeşitli molekülleri hücre dışı ve hücre içi membranlar boyunca taşır. *ABC* genleri yedi farklı alt aileye ayrılır. Bu protein *ABCI* alt ailesinin bir üyesidir. *ABCI* alt ailesinin üyeleri, yalnızca çok hücreli ökaryotlarda bulunan tek büyük ABC alt ailesini oluşturur. Bu protein, substrat olarak N-retiniliden-PE içeren retinaya özgü bir ABC taşıyıcısıdır. Sadece retina fotoreseptör hücrelerinde ifade edilir ve gen ürünü, temel bir molekül olan all-trans-retinal aldehitin (atRAL) fotoreseptör hücre membranı boyunca taşınmasına aracılık eder. Bu gendeki patojenik varyantlar Stargardt hastalığı (#OMIM:248200), retinitis pigmentosa-19 (#OMIM:601718), koni-rod distrofisi tip 3(#OMIM:604116), erken başlangıçlı şiddetli retinal distrofi (#OMIM:248200), fundus flavimakulatus (#OMIM:248200) ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon 2 (#OMIM:153800) ile de ilişkilidir. *ABCA4* disfonksiyonu, fotoreseptörlerde all-trans ve 11-cis retinoidlerin birikmesine, kümülatif olarak "lipofusin" adı verilen pigmentlerin oluşumuna ve bunların çoğunlukla RPE'de birikmesine neden olur [113, 114].

Tablo 3: Stargardt Hastalığı ile İlişkili Genler

STARGARDT HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>ABCA4, ELOVL4, PROM1</i>

2.2.4. Usher Sendromu

Usher sendromu (US), sensörinöral işitme kaybı, RP ve vestibüler disfonksiyonun görülebildiği OR kalıtılan bir sendromdur. US nadir bir hastalık olarak kabul edilir, çünkü 100.000 kişide 3 ila 6 arasında değişen bir prevalansa sahiptir [115]. Sendroma adını veren göz doktoru Charles Usher, işitme kaybı ve retinopatisi olan 40 aileden 69 etkilenmiş hastadan oluşan geniş bir seriyi yayınlamaya Usher Sendromu'nu tanımlamıştır. US geleneksel olarak başlangıç yaşına, semptomların şiddetine ve ilerlemesine ve vestibüler disfonksiyonun varlığına veya yokluğuna bağlı olarak üç farklı alt tipte sınıflandırılmaktadır [116]. Usher sendromu tip 1 (US1) en şiddetli alt tiptir ve şiddetli sensorinöral işitme kaybı, erken başlangıçlı RP ve vestibüler değişiklikler ile karakterizedir [117]. US1'de en sık patojenik varyantlar *MYO7A* geninde bildirilmiş olmakla beraber, *USH1C*, *CDH23*, *PCDH15*, *USH1E*, *USH1H*, *USH1G*, *USH1K* ve *CIB2* genlerindeki patojenik varyantlar da US1 alt tipleri ile ilişkilidir [2, 118] (Tablo 4). *MYO7A* geni 11. kromozomun uzun kolunda (11q13.5) yer almaktadır. Yaklaşık 120 kb genomik DNA'yı kapsayan 49 ekzondan oluşur. *MYO7A*, moleküler kütlesi 254 kDa olan 2215 amino asitlik bir protein olan miyozin VIIa'yı kodlar [119]. Miyozinler, bir motor alanı, bir aktin bağlama alanı, diğer proteinlerle etkileşime giren bir boyun alanı ve bir çapa görevi gören bir kuyruk alanının varlığı ile karakterize edilen mekanokimyasal proteinlerdir. *MYO7A*, aktin filamentleri boyunca hareket eden, farklı kargoları taşıyan belirli makromoleküllerle etkileşime giren çok kısa bir kuyruğu olan geleneksel olmayan bir miyozini kodlar [120, 121]. *MYO7A* genindeki patojenik

varyantlar sendromik olmayan resesif veya dominant işitme kaybının yanı sıra Usher sendromunda olduğu gibi sendromik formlardan da sorumlu olabilir. Usher sendromu tip 2 (US2) orta/şiddetli sensorinöral işitme kaybı, yaşamın ikinci on yılında RP başlangıcı ve normal vestibüler fonksiyon ile kendini gösterir. USH2 en sık görülen alt gruptur. US2’de *USH2A*, *ADGRV1*, *PDZD7* ve *WHRN* genlerindeki patojenik varyantlar hastalıktan sorumludur. Bonnet ve Arkadaşlarının 2016 yılında yayınladığı Avrupa’nın 6 ülkesinden 427 Usher sendromu klinik tanısı olan hastanın dahil edildiği çalışmada 258 hasta US2 tanısı almıştır. Ve bu hastaların %91’inde *USH2A* geninde kliniği açıklayacak patojenik varyant saptanmıştır [122]. *USH2A* geni 73 ekzondan oluşur ve 1q41’de lokalizedir. *USH2A* geni, esas olarak retinanın ışığa duyarlı tabakasında, kohleanın saç hücrelerinde ve birçok dokunun bazal membranında üretilen 5202 amino asitlik bir transmembran proteini olan usherini kodlar [123]. OMIM’de *USH2A* genindeki patojenik varyantlar “Usher sendromu tip 2A” (#OMIM: 276901) ve “Retinitis Pigmentosa tip 39” (#OMIM: 613809) ile ilişkilendirilmiştir [124]. Usher sendromu tip 3 (US3) en nadir görülen formdur ve ilerleyici sensorinöral işitme kaybı ve hem değişken RP başlangıç yaşı hem de vestibüler fonksiyon kaybı ile karakterizedir. Nöroradyolojik anomaliler genellikle tanımlanmaz [125]. *CLRN1* ve *HARS1* genlerindeki patojenik varyantlar ise US3 ile ilişkilendirilmiştir [2, 118, 126] (Tablo 4). Bunlara ek olarak *USH2A* ve *CLRN1* genleri sendromik olmayan RP tipleriyle de ilişkilendirilmiştir [127, 128].

Tablo 4: Usher Sendromu ile İlişkili Genler

USHER SENDROMU TİP1 İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, USH1E, USH1H, USH1G, USH1K, CIB2</i>
USHER SENDROMU TİP2 İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>USH2A, ADGRV1, PDZD7, WHRN</i>
USHER SENDROMU TİP3 İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>CLRN1, HARS1</i>

2.2.5. Bietti kristalin korneoretinal distrofi

Bietti Kristalin Korneoretinal distrofi (BKD), kornea ve retinada köpüklü kristallerle karakterize, nadir görülen ve esas olarak arka kutupta başlayan ilerleyici korneoretinal atrofidir [129, 130]. Hastalık adını 1937 yılında üç hastada hastalığın klasik klinik özelliklerini tanımlayan Bietti'den almıştır. Belirgin merkezi görme bozukluğu, gece körlüğü (niktalopi) ve görme alanlarında daralma, yaşamın 2. ve 4. on yılları arasında hastalığın ilerlemesiyle birlikte görülebilir [129]. Kristalin birikintiler ayrıca cilt fibroblastlarında ve lenfositlerde de gösterilmiştir [131].

BKD, *CYP4V2* genindeki patojenik varyantlar ile ilişkili OR kalıtılan bir hastalıktır. Hastalığın prevalansına yönelik yorum yapmak her ne kadar zor olsa da daha önce yayınlanan çalışma verilerine göre Doğu Asya'da hastalığın daha yaygın olduğu ve görülme sıklığının 67 binde 1 olduğu bildirilmiştir [132]. Ancak yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada tüm Dünya'da prevalansın 116 binde 1 olduğu bildirilmiştir [133]. BKD lokusu ilk olarak 2000 yılında; *CYP4V2* geni ise 2004 yılında tanımlanmıştır [134, 135]. *CYP4V2* geni tarafından kodlanan protein 525 amino aside sahiptir ve sitokrom P450 ailesinin bir üyesidir. *CYP4V2* geni retina pigment epitelinde ve kalp, beyin akciğer, karaciğer, böbrek, plasenta dahil diğer dokularda ifade edilir, ancak klinik bulgular göz ile sınırlıdır [135].

CYP4V2, yağ asidi öncüllerinin çoklu doymamış yağ asitlerine dönüştürülmesinde rol oynar ve mitokondriyal β -oksidasyon ile işlenen dikarboksilik yağ asitleri üretmek için doymuş, orta zincirli yağ asitlerinin terminal karbonunu hidroksilleme aktivitesine sahiptir [136]. Bu aktivitelere bozukluk, yağ asidi öncüllerinin çoklu doymamış yağ asitlerine dönüşümünün azalması ile karakterizedir. Lipid metabolizmasındaki kusur, eksik lipid bağlanmasına, uzamasına veya desatürasyonuna neden olur ve retina, kornea, konjonktiva, fibroblastlar ve lenfositlerde kolesterol veya kolesterol esterlerinin birikmesine yol açar [137, 138]. Kristaller genellikle kornea epitelindeki *CYP4V2* ekspresyonu ile ilişkili olarak periferik paralimbal bölgede bulunur [139] (Şekil 14). Bu korneal kristal birikintileri, BKD'li hastaların üçte biri ila yarısında yarıık lamba biyomikroskopisi veya speküler mikroskopi ile tespit edilebilir [140].



Şekil 14: Bietti hastasının Fundus Görünümü. Sağ göz retinasının arka kutbunda parlak, sarı-beyaz kristal birikintiler mevcut [141].

2.2.6. Bardet Biedl Sendromu

Bardet Biedl Sendromu (BBS) silyopati olarak kabul edilen nadir bir kalıtsal hastalık grubudur [142]. RP, obezite, böbrek anomalileri, polidaktili, öğrenme güçlüğü ve hipogonadizm ile karakterizedir [143]. BBS'nin prevalansı bölgesel ve etnik farklılıklarla birlikte yaklaşık 1/125.000~1/160.000 olarak rapor edilmiştir [144, 145]. Yapılan çalışmalarda Arap Yarımadası, Kanada'nın bazı adaları, Kuzey Afrika bölgeleri gibi akraba evliliğinin sık olduğu izole toplumlarda BBS'nin daha yaygın görüldüğü bildirilmiştir [146, 147]. Güncel literatürde (Mart 2024) BBS ile ilişkili 25 gen bildirilmiştir [2] (Tablo 5).

Yapılan çalışmalarda en sık *BBS1* ve *BBS10* geninde patojenik varyantlar saptanmıştır [148, 149]. Bununla birlikte, halen hastaların yaklaşık %20'sinde kesin bir moleküler tanı bulunmamaktadır [150].

Tablo 5: Bardet Biedl Sendromu ile İlişkili Genler

BARDET BİEDL SENDROMU İLE İLİŞKİLİ GENLER
<i>ADIPOR1, ARL6, BBIP1, BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BBS10, BBS12, C8orf37, CEP19, CEP290, IFT172, IFT27, INPP5E, KCNJ13, LZTFL1, MKKS, MKS1, NPHP1, SDCCAG8, TRIM32, TTC8</i>

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim

Dalı'nda, Haziran 2019 ile Aralık 2023 tarihleri arasında RP ve ilişkili sendromik hastalıklar nedeniyle muayene edilen ve Marmara Üniversitesi Tıp

Fakóltesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Polikliniđi'nde değerlendirilen ve Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda ıslak laboratuvar çalışması yapıldıktan sonra analiz edilen hastaların dosyaları geriye dnk olarak incelendi. Dahil edilme kriterlerini sağlayan 94 hasta çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalar Türk etnik kökene sahipti.

Çalışma retrospektif tanımlayıcı bir araştırmadır. Tez araştırması için Marmara Üniversitesi Etik

Kurulu'nun 09.2023.876 numaralı kararıyla etik kurul onayı alındı (Ek-1).

Haziran 2019 ile Aralık 2023 tarihleri arasında kalıtsal retinal distrofi alt tiplerinden birinin ön tanısıyla polikliniğimize yönlendirilen hastaların dosyaları geriye dönük olarak tarandı.

Çalışma için belirlediğimiz dahil olma kriterleri:

1. 0-80 yaş arasında olmak
2. Kalıtsal retinal distrofi n tanısıyla moleküler genetik çalışma yapılmış hastalar
3. Pedigri analizinde risk altında olduğu görülen veya kalıtım paterninin gösterilebilmesi için moleküler analiz yapılan, indeks olgunun ailesine ait bireyler
4. Gönüllü onam ve onay formu alınan hastalar

Çalışma için belirlediğimiz dışlama kriterleri:

1. Dosya kayıtları eksik olan hastalar
2. Genetik testi tamamlanmamış hastalar
3. Gönüllü onam ve onay formu alınmayan hastalar

3.2. Verilerin Toplanması

Dahil edilen hastaların cinsiyet,yaş, ilk semptom, semptom başlama yaşı, en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri, göz ve göz dibi muayene bulguları (n ve arka segment muayene bulguları),

varsa fundus otofloresans (FAF), optik koherans tomografi (OKT) elektrofizyolojik tetkikleri (tam alan elektroretinografi (ERG), multifokal ERG, vizüel uyarılmış potansiyel (VEP)) gibi oftalmolojik tetkikleri, dismorfolojik muayene bulguları, semptom ve bulguların seyri, özgeçmiş ve soygeçmiş bilgileri ile genetik tetkik sonuçları Tıbbi Genetik arşiv dosyalarından, Hastane Origo HBYS sisteminden toplandı.

Elde edilen verilerden genotip fenotip bilgilerini içeren tablo ve grafikler oluşturuldu.

3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

“Kalıtsal Retinal Distrofi Paneli” çalışılan hastalardan mor kapaklı etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)’lı kan tüplerine 5 mL tam kan örneği alındı, DNA izolasyonu için “Lab-Aid 824 DNA İzolasyon Kiti” (Xiamen Zeesan Biotech Co., Ltd., P.R. Çin) ve “LabAid 824s Nükleik Asit İzolasyon Cihazı” (Xiamen Zeesan Biotech Co., Ltd., P.R. Çin) kullanıldı. İzolasyon kiti insan DNA'sının otomatik izolasyonu ve saflaştırılması için manyetik partikül teknolojisini kullanır. Bir kit ile 48 örnekten DNA izolasyonu yapılabilir. DNA izolasyonu 4 basamakta gerçekleşmektedir:

1- Lizis: Çekirdekli hücrelerdeki DNA, hastalardan alınan kandaki hücreler lizis tamponu ile parçalanarak serbest hale getirilir.

2- Bağlama: Bağlanma koşullarını ayarlamak için parçalanmış numunelere bağlama tamponu eklenir. Lizatlar manyetik boncuklarla iyice karıştırılır, bu şekilde DNA'nın manyetik boncuklara optimal bağlanması sağlanır. Polimeraz zincir reaksiyonunu (PZR) engelleyebilecek proteinler manyetik boncuklara bağlanamaz.

3- Yıkama: DNA manyetik boncuklara bağlı kalırken, bir dizi yıkama adımı sırasında kirleticiler verimli bir şekilde yıkanır.

4- Elüsyon: Elde edilen yüksek saflıktaki DNA, elüsyon tamponunda

ayrıştırılarak ya hemen kullanılabilir ya da ileride kullanılmak üzere saklanabilir.

Bu aşamalardan sonra DNA örneklerinin saflık ve konsantrasyonları Qubit 3.0 Florometre (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) kullanılarak ölçüldü. DNA'nın saflığını gösteren iki parametre olan A260/A280 ve A260/A230 oranları ölçüldü. Elde edilen DNA'ların saf olması için bu iki oranın 1,8-2,2 arasında olması gerekmektedir. Bu kriterleri sağlayan ve başlangıç konsantrasyonu 15 µl'de en az 100 ng olan DNA örnekleri çalışmaya alındı.

3.4. Yeni Nesil Dizileme (YND) Yöntemi

Çalışmamızda YND yöntemi için Illumina platformu kullanılmıştır. Illumina platformunda kütüphane hazırlanması, dizileme ve veri analizi olmak üzere 3 basamaklı iş akışı vardır.

1- Kütüphane hazırlama: Bu aşamada DNA örnekleri dizilemeye uyumlu olacak şekilde hazırlanır. DNA'nın parçalanması ve her iki uca özel adaptörlerin eklenmesiyle kütüphane oluşturulur. Bu adaptörler, DNA fragmanlarının akış hücresine bağlanmasına izin veren tamamlayıcı diziler içerir. Çoğullama (multiplexing) denen işlemle birden çok kütüphane tek havuzda toplanabilir ve aynı çalışmada dizilenebilir. Veri analizi sırasında kütüphaneleri ayırt etmek için Adaptör ligasyonu esnasında, her kütüphaneye spesifik barkodlar eklenir.

2- Dizileme: Hazırlanan kütüphaneler bir akış hücresine yüklenir ve dizileme cihazına yerleştirilir. DNA fragmanları "küme oluşturma" adı verilen bir süreçte çoğaltılır ve sonuçta tek iplikli milyonlarca DNA kopyası elde edilir. "Sentez yoluyla dizileme" adı verilen bir süreçte, kimyasal olarak modifiye edilmiş nükleotitler, tamamlayıcısı olduğu DNA şablon zincirine bağlanır. Her nükleotid, bir floresan etiket ve bir sonraki bazın dahil edilmesini engelleyen tersinir bir sonlandırıcı içerir. Floresan sinyali, hangi nükleotidin eklendiğini gösterir ve sonlandırıcı, sonraki bazın

bağlanabilmesi için bölünür. İleri DNA zincirini okuduktan sonra, okumalar yıkanır ve işlem ters iplik için tekrarlanır. Bu yöntemle “eşleştirilmiş uç dizileme” denir [151, 152].

3) Veri analizi: Elde edilen kısa DNA dizi okumalarının genom boyunca referans dizisine göre çeşitli algoritmalar kullanılarak doğru şekilde hizalandırılır. Bundan sonra kalite parametrelerini (haritalama oranı ve hedeflenen bölgenin okuma derinliği gibi) geçen çalışmalar analize uygundur.

3.4.1. Klinik Ekzom Dizileme (CES) Kiti

Klinik ekzom dizileme için, 4490 genin ekzonları ve ekzon-intron bileşke bölgelerini kapsayan YND tabanlı Clinical Exome Solution® v2 kit (SOPHiA Genetics, SA, İsviçre) veya 6380 genin ekzonları ve ekzon-intron bileşke bölgelerini kapsayan YND tabanlı Clinical Exome Solution® v3 kit (SOPHiA Genetics, SA, İsviçre) kullanıldı. YND dizi protokolü için NextSeq550DX® NGS (Illumina) cihazı kullanıldı. Sekanslamadan sonra elde edilen veriler Sophia DDM® (Sophia Genetics SA, İsviçre) platformunda analiz edildi. Bu yazılım, ham verilerin analizinin yanında hem delesyon ve duplikasyon gibi kopya değişikliklerinin hem de nokta varyantların analizine imkan sağlayan bir ara yüzdür. Kopya değişikliklerinin analizinde kullanılan platform 200 baz çifti çözünürlüğe kadar olan değişimleri saptayabilmektedir. Kopya değişiklikleri analizinde hedef bölgelerin kapsama oranı aynı çalışma içinde kullanılan numuneler arasında analiz edilerek gerçekleştirilir. Her numune için algoritma kapsama modellerinin benzerliğine bağlı olarak aynı çalışmadan bir dizi referans numunesini otomatik olarak seçer. Ayrıca referans numuneler kullanılarak kapsama numune ve hedef bölge tarafından normalleştirilir, Hidden-Markov- model algoritması kullanarak kopya değişiklikleri analizini program tarafından yapılmaktadır. Analiz sırasında tek nükleotit değişikliği (SNV) listesi ve kopya sayısı değişikliği (CNV)’de tespit edilen genleri, düşük alel frekanslı varyantları in-siliko

araçlarda patojenik skorlara sahip varyantları içerecek şekilde özel olarak filtrelenmiştir. Hedef bölgede %90 prob dizisine ve 20X kapsamı %97'sine sahiptir.

3.5. Varyantların filtrelenmesi ve analizi

Varyantların analizi için Sophia DDM®-versiyon 4 platformu kullanıldı (Sophia Genetics SA, İsviçre). Kalıtsal Retinal Distrofi ile ilişkili 141 gen analiz edildi (Tablo 5). Elde edilen varyantların patojenite değerlendirilmesi için aşağıdaki filtreleme yöntemleri uygulandı:

- 1- Varyant fraksiyonu %15-100 arasında olan varyantlar analiz edildi.
- 2- Minör allel frekansı genom toplama veri tabanı (gnomAD) [153], 1000 genom (1000G) (1000 Genom Proje Konsorsiyumu, 2012) ve ekzom dizileme projesi (ESP5400) (NHLBI GO Ekzom Dizileme Projesi) veri tabanlarına göre %0.1'in altında kalan varyantlar seçildi.
- 3- Clinvar veri tabanında "İyi huylu" ve/veya "Olası iyi huylu" olarak rapor edilmiş varyantlar elendi.
- 4- "Mutation Taster" [154] ve "Human Splicing Finder (HSF)" [155] programlarına göre kırılmayı etkilemediği ön görülen amino asit değişimine sebep olmayan sinonim varyantlar ve kırılma bölgesinden 20 bç uzakta olan intronik varyantlar filtreleme ile elendi.
- 5- Tüm yanlış anlamlı, anlamsız, çerçeve kaymasına sebep olan, çerçeveyi bozmadan delesyon/duplikasyona sebep olan, ekzon intron bileşke bölgesinin 20 bç içerisinde kalan intronik varyantlar seçildi.
- 6- Filtreleme işlemi sonrası kalan varyantların patojenitesi ACMG kriterleri [156] kullanılarak değerlendirildi. Bunun için ACMG kriterlerini

kullanarak patojenite skoru veren Varsome [157] programı kullanıldı. Bu kriterlere göre “İyi huylu” ve/veya “Olası iyi huylu” olarak değerlendirilen varyantlar elendi.

7- Kalan varyantlar hastanın kliniği ve segregasyon çalışmaları ile değerlendirilerek klinik ilişkili olabilecek varyantlar raporlandı.

Tablo 6 : Kalıtsal Retinal Distrofi Panelindeki Genler

KALITSAL RETİNAL DİSTROFİ PANELİNDEKİ GENLER
<i>ABCA4, ABHD12, ADAM9, AHI1, AHR, AIPL1, ALMS1, ARL3, ARL6, ATF6, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BEST1, C8orf37, CA4, CABP4, CACNA1F, CACNA2D4, CDH3, CDHR1, CEP290, CERKL, CLRN1, CNGA1, CNGA3, CNGB1, CNGB3, CNNM4, CRB1, CRX, CYP4V2, DHDDS, ELOVL4, EYS, FAM161A, FLVCR1, FSCN2, GDF6, GGCX, GNAT1, GNAT2, GPR179, GRK1, GRM6, GUCA1A, GUCA1B, GUCY2D, HGSNAT, HK1, IDH3B, IFT140, IFT172, IFT43, IFT88, IL10, IL12RB2, IL23R, IMPDH1, IMPG2, IQCB1, KCNJ13, KCNV2, KLHL7, LCA5, LRAT, LRIT3, LZTFL1, MAK, MEFV, MERTK, MFRP, MKKS, MKS1, NEUROD1, NMNAT1, NOD2, NPHP1, NR2E3, NRL, NYX, OFD1, PANK2, PCARE, PDE6A, PDE6B, PDE6C, PDE6G, PDE6H, PITPNM3, POMGNT1, PRCD, PROM1, PRPF3, PRPF31, PRPF6, PRPF8, PRPH2, RAX2, RBP3, RD3, RDH12, RDH5, RGR, RHO, RIMS1, RLBP1, ROM1, RP1, RP1L1, RP2, RP9, RPE65, RPGR, RPGRIP1, RPGRIP1L, SAG, SDCCAG8, SEMA4A, SLC19A2, SLC24A1, SNRNP200, SPATA7, STAT4, TLR4, TOPORS, TRIM32, TRPM1, TTC8, TUB, TULP1, UNC119, USH2A, WDPCP, WDR19, ZNF513</i>

3.5.1. Varyant Değerlendirilmesinde Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) Kriterleri

YND teknolojilerinin yaygın bir şekilde kullanılması ile dizi varyantlarının değerlendirmesi amacıyla çeşitli rehberler ve standartlar önerilmiş ve geliştirilmiştir. Bunlar arasından Amerikan Tıbbi Genetik Koleji (ACMG) ve Moleküler Patoloji Derneği (AMP) ortak

rehberi germline DNA dizi varyantlarının değerlendirmesi konusunda uluslararası alanda kabul görmüş ve yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. “Mutasyon” ve “polimorfizm” terimleri yerine “varyant” ifadesinin kullanılması ve Human Genome Variation Society (HGVS) nomanklatürü kullanılması önerilmiştir.

Bu kriterler şöyledir;

Patojenik kriterler;

1) Çok Güçlü Patojenite Kanıtı

PVS1: Fonksiyon kaybettiren varyantların bilinen bir hastalık sebebi olduğu durumlarda anlamsız, çerçeve kayması başlama kodonu ya da ekzonun delesyonu türünde değişiklikler.

2) Patojenik Etkinin Güçlü Kanıtları

PS1: Daha önce patojenik olduğu belirlenen varyantla nükleotid değişiminden bağımsız olarak aynı amino asit değişimi.

PS2: Hastada bulunup aile öyküsü olmadan de novo varyant görülmesi.

PS3: Varyantın zararlı etkisi in vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenmektedir.

PS4: Varyantın etkilenen bireylerde prevelansının anlamlı derecede artması.

3) Patojenik Etkinin Orta Dereceli Kanıtları

PM1: Benign varyasyonların görülmediği hot-spot noktalar ve kritik fonksiyonel alanlarda bulunması

PM2: Ekzon Sekans Projesi, 1000 Genom veya ExAC gibi veritabalarında düşük alel frekansı.

PM3: Resesif hastalıklar için başka bir patojenik varyantla trans halinde tespit edilen varyant.

PM4: Protein uzunluğunun çerçeve içi delesyon ya da insersiyonla kısalması.

PM5: Daha önce patojenik olduğu belirlenen bir missense varyasyonun olduğu amino asitte olan novel bir missense varyant

PM6: Aile bilgisi öğrenilmeden de novo olarak görülen varyasyonlar.

4) Patojeniteyi Destekleyen Kanıtlar

PP1: Hastalığa neden olduğu kesin olarak bilinen bir gende birden fazla etkilenen aile üyesinde hastalıkla birlikte kümelenme

PP2: Benign yanlış anlamalı (missense) varyantların görülme sıklığının düşük olduğu bir gende saptanan yanlış anlamalı varyant.

PP3: Birden fazla biyoinformatik algoritma tarafından gen veya gen ürünü üzerinde bulunan varyantın patojenitesini destekleyen

PP4: Hastanın fenotipi veya aile öyküsü, tek bir genetik etiyolojiye sahip bir hastalık için oldukça spesifiktir.

PP5: Güvenilir kaynaklar tarafından yakın zamanda patojenik olarak bildirilen fakat ancak laboratuvarın bağımsız bir değerlendirme yapabilmesi için kanıt olmayan varyantlar.

Benign kriterleri;

1) Benign Etkinin Bağımsız Kanıtı

BA1: Ekzom Dizileme Projesi, 1000 Genom projesi veya ExAC projelerinde minör alel frekansı %5'in üzerindedir.

2) Benign Etkinin Güçlü Kanıtı

BS1: Hastalık için öngörülenden yüksek alel frekansı

BS2: Erken yaşta tam penetrasyon beklenen ve sağlıklı bir erişkin bireyde resesif (homozigot), dominant (heterozigot) veya X'e bağlı (hemizigot) olarak gözlenebilen hastalık durumu

BS3: İn vivo ve in vitro çalışmalarla protein fonksiyonu ve splaysta zararlı etkisinin gözlemlenememesi.

BS4: Bir ailenin etkilenen üyelerinde segregasyon eksikliği

3) Benign Etkiyi Destekleyen Kanıtlar

BP1: Kırpma (Truncating) varyasyonların sebep olduğu bilinen bir hastalıkta missense varyant

BP2: Tamamen penetran, dominant bir gen/hastalık için patojenik başka bir varyantla trans halinde ya da herhangi bir kalıtım modelinde patojenik başka bir varyantla cis halinde gözlemlenmesi

BP3: Bilinen bir işlevi olmayan, genomda bulunan tekrar bölgelerindeki çerçeve içi

delesyon/insersiyonlar

BP4: Çok sayıda biyoenformatik algoritma tarafından, gen veya gen ürünü üzerinde bir etkisi olmadığını göstermesi benign varyant

BP5: Varyantın, ilişkili olduğu hastalık için alternatif bir genetik temele sahip bir vakada saptanması.

BP6: Güvenilir kaynaklar tarafından son zamanlarda benign olarak bildirilen, ancak bulguların bir laboratuvar tarafından bağımsız bir değerlendirme yapmak için uygun olmamasıdır.

BP7: Kırılma işlemi üzerine hiçbir etki göstermeyen ve nükleotidi çok fazla korunmayan eş anlamlı(sessiz) variant.

2015 yılından yayınlanan ACMG ve AMP kılavuzları, varyant sınıflandırma ve yorumlaması için kullanılan özel kuralları tanımlamıştır (Richards ve diğ., 2015). Bu kılavuzlar, dizi analizi sonucu ortaya çıkan varyantlarının patojenitesini tutarlı bir şekilde değerlendirmek için bir çerçeve sağlamayı amaçlamaktadırlar. Bu kılavuzlara göre varyantlar beş kategoriye sınıflandırılmaktadırlar. Bu kategoriler şunlardır:

- Patojenik (P)
- Olası patojenik (LP)
- Belirsiz anlamlı varyant (VUS)
- Olası benign (LB)
- Benign (B)

Sınıflandırma; popülasyon verileri, hesaba dayalı ve tahmin verileri, fonksiyonel veriler, segregasyon verileri ve ACMG-AMP kılavuzlarında ayrıntılı olarak açıklanan diğer kuralları içeren mevcut kanıtların kombinasyonuna dayanmaktadır.

3.6. Varyantların Segregasyon Analizi

CES analizleri sonrası elde edilen indeks olgularda saptanan varyasyonların doğrulanması ve birinci dereceden akrabalar olan anne, baba ve kardeşler ve benzer öyküye sahip olan akrabalarda saptanan varyantın varlığını saptamak ve aile içindeki dağılımı göstermek amacıyla segregasyon analizleri yapıldı. Tespit edilen varyantların bulunduğu ekzonlara uygun primerler kullanılarak yapılan uygun şartlardaki PZR çalışması sonrası ABI PRISM 3130xl Genetic

Analyzer (Applied Biosystems, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı ile dizileme yapıldı. Verinin analizi Chromas (Technelysium Pty Ltd, Avustralya) analiz programı ile yapıldı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm analizler ve grafikler GraphPad Prism, Version 9.5.0 kullanılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) yanı sıra nitel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher'in kesin olasılık testi kullanıldı. Anlamlılık en az $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

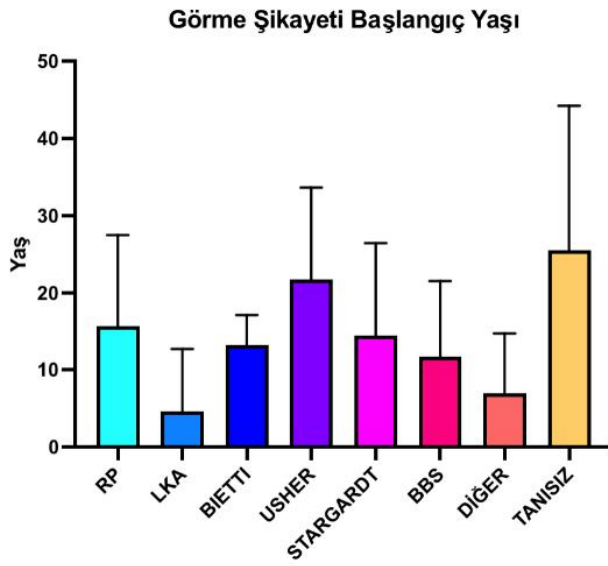
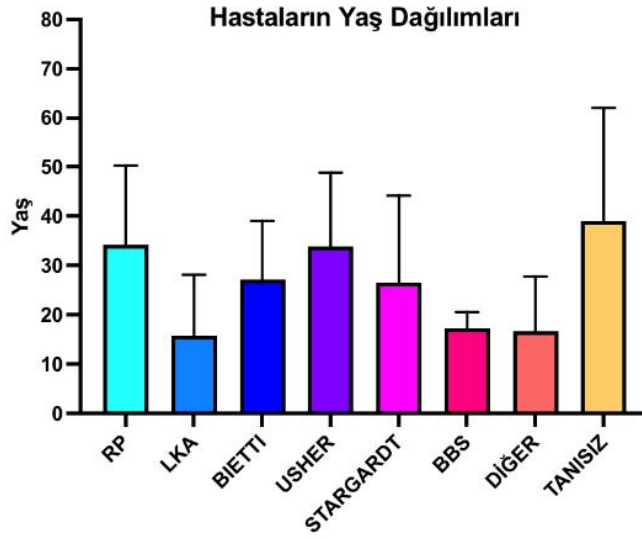
4.1. Demografik Veriler

Genel yaş ortalaması $29,03 \pm 17,98$ olan hastaların (1-80 yaş), 52'si erkek (%55,32), 42'si kadındı (%44,68). Çalışmaya dahil edilen hastaların görme şikayetlerinin başlangıç yaşları ortalaması $15,29 \pm 13,74$ yaş'tı (Şekil 15). Hastaların 69 tanesinin anne ile babası arasında akrabalık vardı ya da aynı köylülerdi (%73,40) (Şekil 16, 17). Ve hastaların 40 tanesinin ailesinde aile öyküsü vardı (%42,55). Ayrıca hastaların 42 tanesinde göz bulgularına eşlik eden diğer sistemleri etkileyen bulguları vardı (%44,68) (Tablo 7).

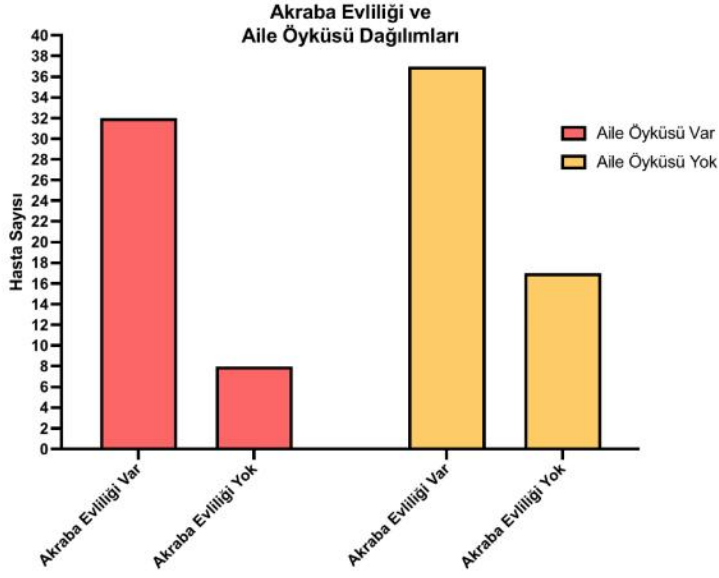
Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen hastaların Demografik ve Klinik Bilgileri

	RP n=29	LKA n=10	BIETTI n=4	USHER n=8	STARGARDT n=10	BBS n=4	DİĞER n=12	TANISIZ n=17	TOPLAM n=94
Yaş (Ortalama $\pm$ SS)	34.03 $\pm$ 15.86	15.70 $\pm$ 12.42	27.25 $\pm$ 11.79	33.88 $\pm$ 14.98	26.60 $\pm$ 17.64	17.25 $\pm$ 3.30	15.55 $\pm$ 10.66	39.12 $\pm$ 22.86	29.03 $\pm$ 17.98
Görme Şikayeti Başlangıç Yaşı (Ortalama $\pm$ SS)	15.66 $\pm$ 11.85	4.60 $\pm$ 8.13	13.25 $\pm$ 3.86	21.75 $\pm$ 11.90	14.50 $\pm$ 11.94	11.75 $\pm$ 9.77	7.00 $\pm$ 7.75	25.53 $\pm$ 18.73	15.29 $\pm$ 13.74
Cinsiyet (%)									
Kadın	51.72	50.00	75.00	50.00	60.00	25.00	33.33	24.00	44.68
Erkek	48.28	50.00	25.00	50.00	40.00	75.00	66.67	76.00	55.32
Akraba Evliliği (%)									
Var	79.31	90.00	100.00	75.00	60.00	75.00	91.67	41.18	73.40
Yok	20.69	10.00	0.00	25.00	40.00	25.00	8.33	58.82	26.60
Aile Öyküsü (%)									
Var	51.72	40.00	50.00	62.50	50.00	25.00	25.00	29.41	42.55
Yok	48.28	60.00	50.00	37.50	50.00	75.00	75.00	70.59	57.45
Göz dışı Bulgu (%)									
Var	27.59	30.00	25.00	100.00	20.00	100.00	66.67	47.06	44.68
Yok	72.41	70.00	75.00	0.00	80.00	0.00	33.33	52.94	55.32

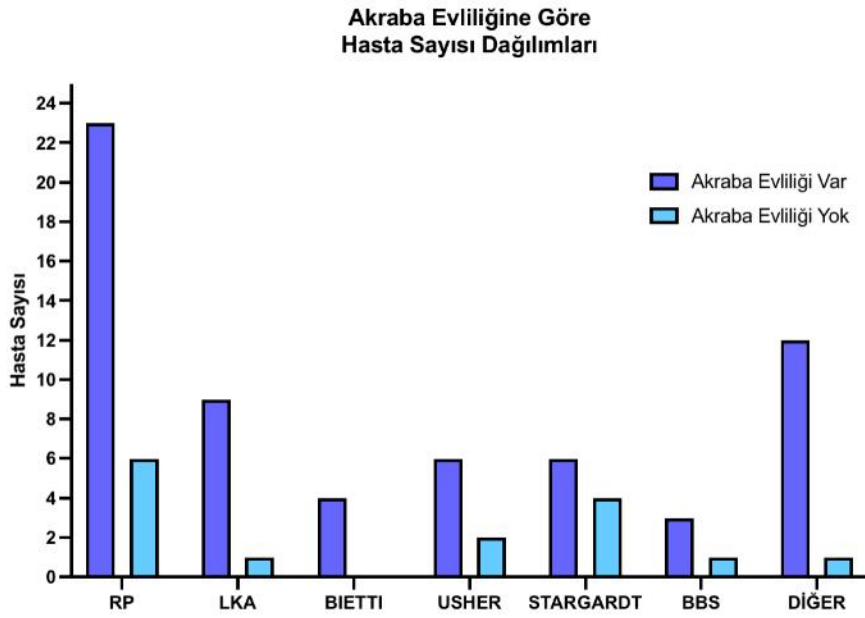
Herbir grubun örneklem sayısı n ile belirtilmiştir. Toplam örneklem sayısı 94'tür. RP: Retinitis Pigmentosa, LKA: Leberin konjenital amorozisi, BIETTI: Bietti kristalin korneoretinal distrofi, USHER: Usher Sendromu, STARGARDT: Stargardt Hastalığı, BBS: Bardet Biedl Sendromu, DİĞER: Aşağıda verilen klinik durumlardan Alstrom ve Akromatopsi iki (2) diğer klinik durumların herbirinden bir (1) hasta içermektedir. "DİĞER" kapsamında değerlendirilen hastalıklar; Pharc, Oguchi, Retinal kon distrofi 3b, Aniridi, Alstrom, Akromatopsi, Retinoskizis, Choroidemia, Girat atrofisi



Şekil 15: A) Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş dağılımları
B) Görme şikayetlerinin başlangıç yaşı



Şekil 16: Çalışmaya dahil edilen hastaların akraba evliliği ve aile öyküsü dağılımları

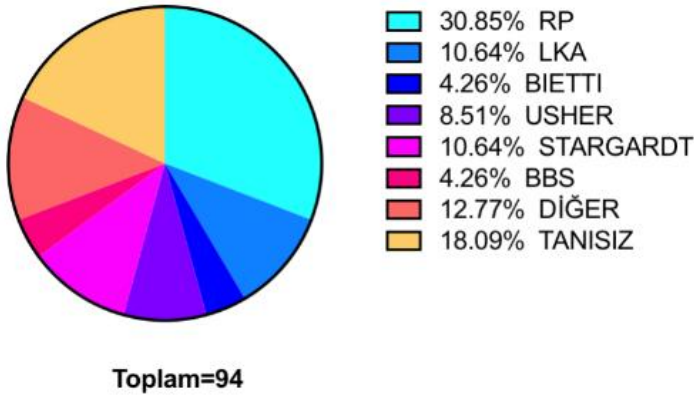


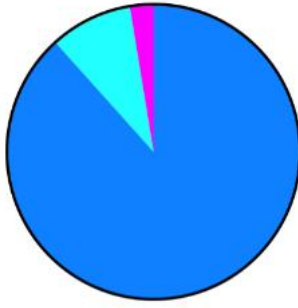
Şekil 17 : Çalışmaya dahil edilen hastalarda saptanan sendromlardaki akraba evliliği dağılım oranları

4.2. Hastaların Genetik Analiz Sonuçları

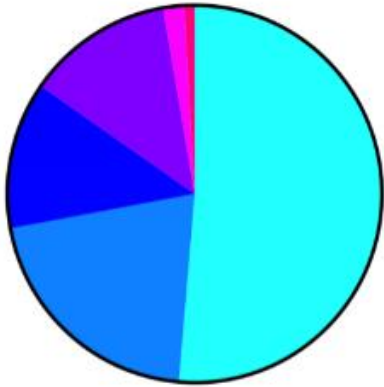
Hastaların 77 (%81) sinde klinik önemi bilinen 58 (%52,25) patojenik, 39 (%35,14) olası patojenik ve 14 (%12,6) adet VUS olarak sınıflandırılabilen 111 varyant saptandı (Şekil 18).

Bu varyantların 57 (%51,35) si missense, 23 (%20,72) ü nonsense, 14 (%12,61) ü splice, 14 (%12,61) ü frameshift (çerçeve kayması), 2 (%1,8) si delins ve 1 (%0,9) tanesi delesyondur (Şekil 19). Hastaların 29 tanesine RP (%30,85), 10 tanesine Stargardt (%10,64), 10 tanesine LKA (%10,64), 8 hastaya US (%8,51), 4 hastaya BKD (%4,26), 4 hastaya BBS (%4,26) tanısı konuldu. 12 hastaya (%12,77) ise tabloda belirtildiği üzere “Diğer” kategorisinde değerlendirilen KRD’nin nadir alt tiplerinin tanısı konuldu (Şekil 18).

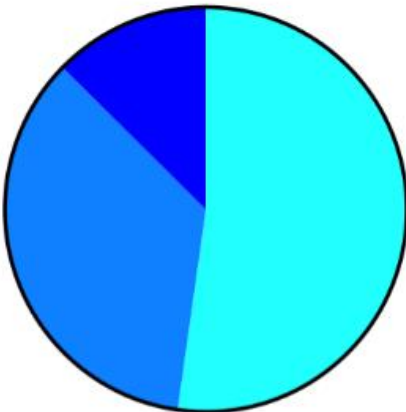




Toplam=77



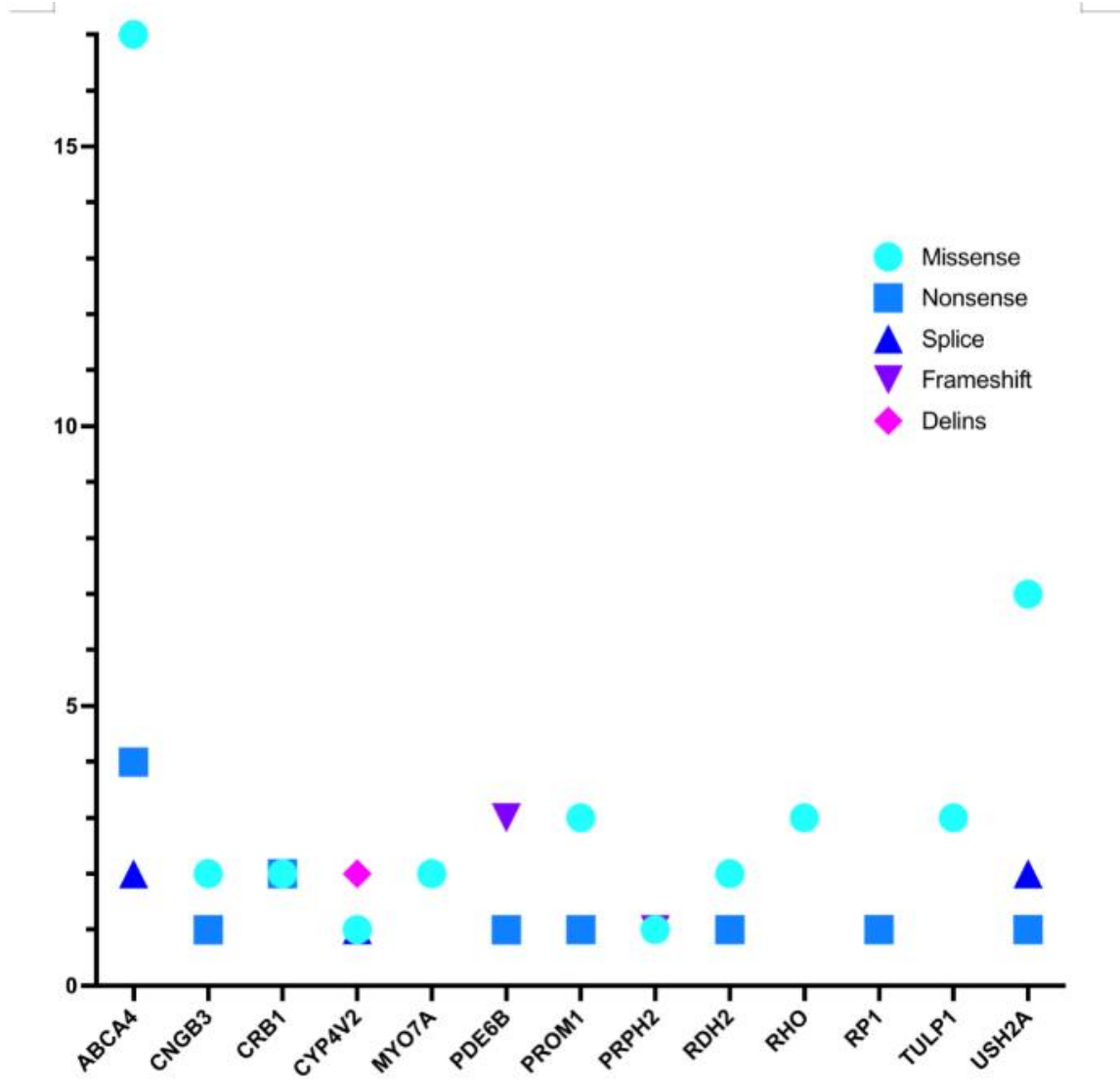
Toplam=111



Toplam=111

Şekil 18: A) Hasta oranlarının KRD alt tiplerine göre dağılımı B) Tanı alan hastaların kalıtım şekline göre dağılımı C) Saptanan varyantların tipleri D) Varyantların patojenite sınıflandırılması

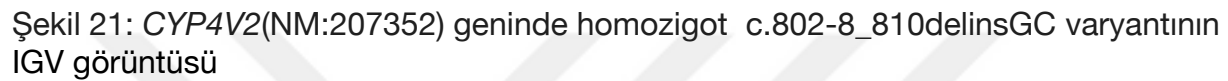




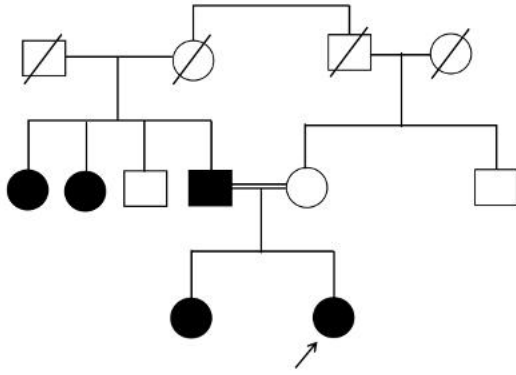
Şekil 19: Saptanan varyantların tipleri ve dağılımları

4.3. Seçili Olguların Klinik Bulguları Ve Genetik Analizleri

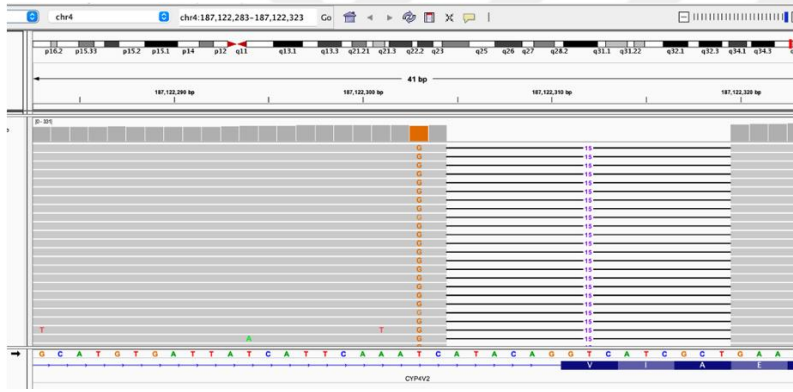
Hasta 14'ün klinik bulguları ve genetik analizleri



44 yaşında kadın hasta. 11 yaşında görmede azalma şikayetleri başlayan hastanın 30 yaşındayken sol gözden katarakt nedeniyle operasyon öyküsü vardı. Anne ile baba arasında 1. Kuzen evliliği vardı (Şekil 22). Aile öyküsünde abla, baba ve 2 halasında benzer şikayetler vardı. Hastanın yapılan elektrofizyolojik tetkiklerinde flash ERG de rod ve kon yanıtları alınamadı. Multifokal ERG sinde yanıtlar subnormal saptandı. Yapılan genetik incelemede *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.802-8_810delinsGC patojenik varyantı saptandı (Şekil 23). Hastaya Bietti Korneoretinal Distrofi (OMIM#210370) tanısı konuldu.



Şekil 22: Hasta 18'in aile ağacının çizimi

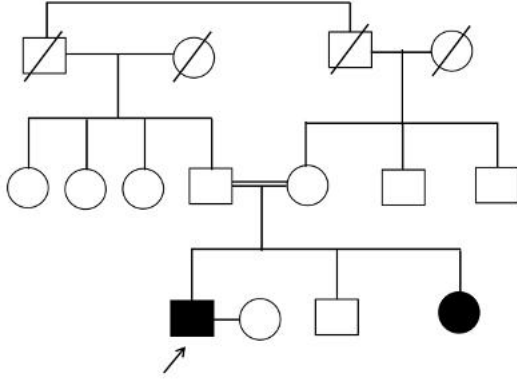


Şekil 23: *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.802-8_810delinsGC varyantının IGV görüntüsü

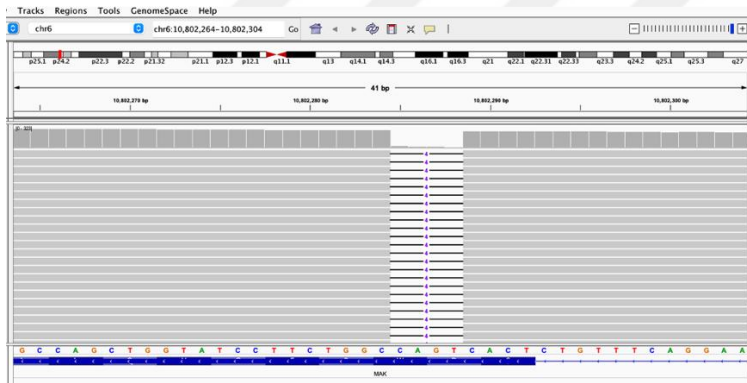
Hasta 20'nin klinik bulguları ve genetik analizleri

32 yaşında erkek hasta. 12-13 yaşında başlayan gece görmede azalma şikayetleri vardı. Şikayetlerinin artması ve 24 yaşında merdivenden düşme hikayesinden sonra hastaneye başvurdu. Yapılan göz tetkikleri sonrasında hastaya RP teşhisi konuldu. Hastanın özgeçmişinde 26 yaşında renk körlüğü tanısı vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 24). Kız kardeşinde miyop öyküsü ve geceleri az görme şikayetleri vardı. Hastanın genetik incelemesinde *MAK*(NM:001242385) geninde homozigot c.668_671del (p.Asp223Glyfs*11) varyantı saptandı (Şekil 25).

Clinvar’da patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı. MAK genindeki biallelik varyantlar OMIM’de (#OMIM: 614181) Retinitis pigmentosa tip 62 ile ilişkilendirilmiştir. Anne, baba ve kızkardeşten segregasyon istendi.



Şekil 24: Hasta 20’nin aile ağacının çizimi

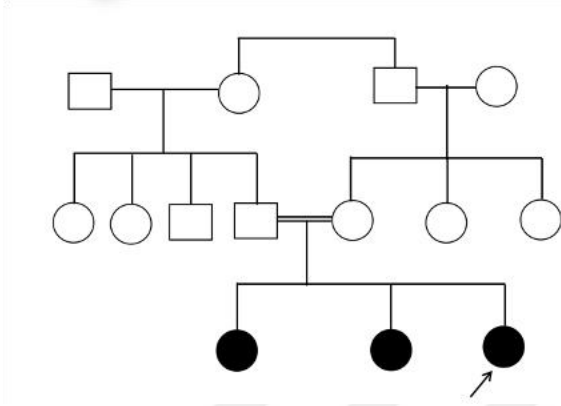


Şekil 25: MAK(NM:001242385) geninde homozigot c.668_671del (p.Asp223Glyfs*11) varyantının IGV görüntüsü

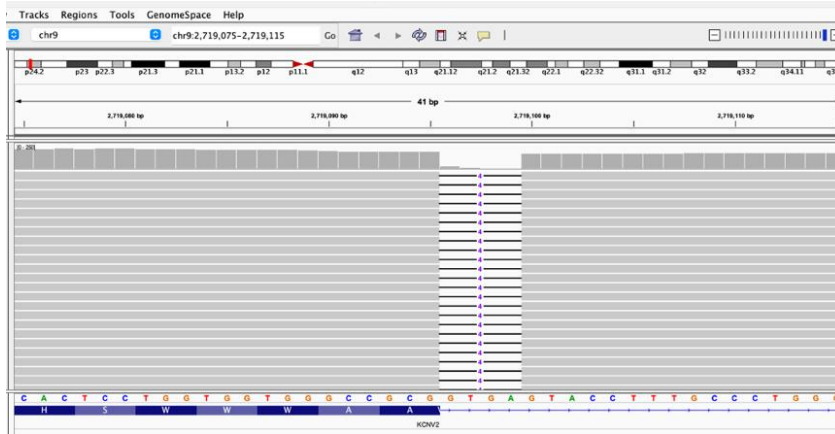
Hasta 31’in klinik bulguları ve genetik analizleri

18 yaşında kız hasta. Doğumdan itibaren görmesinin az olduğu fark edildi. Anne baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 26). Benzer şikayetleri olan biri 22 diğeri 20 yaşında 2 ablası vardı. Her iki ablanın yapılan elektrofizyolojik tetkiklerinde flash ERG de rod ve kombine yanıtları normal kon amplitüdlere düşük saptandı. Bulgular Kon distrofisi lehine yorumlandı. Yapılan

genetik incelemede indeks olguda *KCNV2*(NM_133497) geninde homozigot c.1356+3_1356+6del varyantı saptandı (Şekil 27). Saptanan varyant Clinvar’da patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı. *KCNV2* genindeki biallelik varyantlar OMIM’de Retinal kon distrofisi tip 3B (#OMIM: 610356) ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan segregasyon çalışmasında bahsedilen varyant açısından anne ve baba heterozigot olarak saptanırken her iki kardeşinde ise homozigot saptandı.



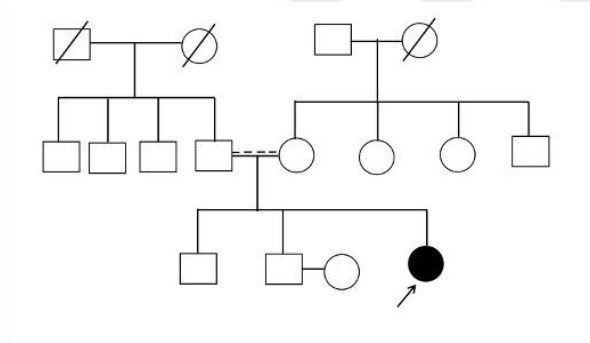
Şekil 26: Hasta 31’in aile ağacının çizimi



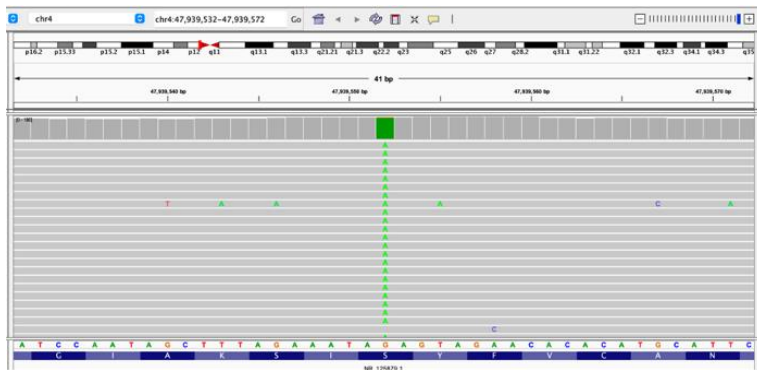
Şekil 27: *KCNV2*(NM_133497) geninde homozigot c.1356+3_1356+6del varyantının IGV görüntüsü

Hasta 40'ın klinik bulguları ve genetik analizleri

31 yaşında kadın hasta. 13 yaşından itibaren hipermetrop ve astigmat nedeniyle takipliydi. Son 1 yıldır görmede azalma şikayetleri vardı. Fundus muayenesi RP ile uyumlu saptandı. Aile öyküsünde anne baba akraba değildi ancak aynı köydendi (Şekil 28). Ailede benzer şikâyeti olan kimse yoktu. Yapılan genetik incelemede CNGA1(NM_001379270.1) geninde homozigot c.947C>T (p.Ser316Phe) varyantı saptandı (Şekil 29). Clinvar'da patojenik ve olası patojenik olarak bildirilmişti. ACMG kriterlerine göre patojenik (PP1, PS3, PM2, PP3) olarak değerlendirildi. CNGA1 genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 613756) Retinitis pigmentosa tip 49 ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan segregasyon çalışmasında CNGA1 genindeki varyant açısından anne ve baba heterozigot olarak saptandı.



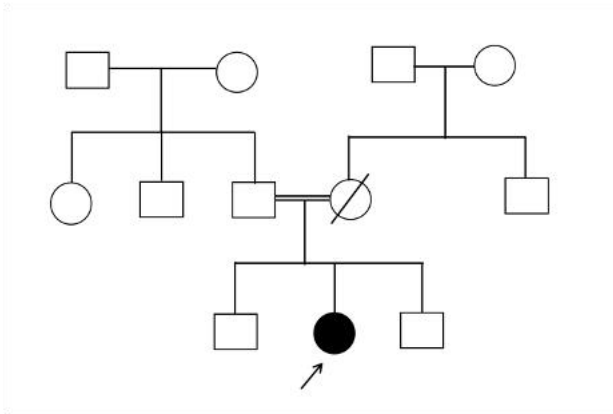
Şekil 28: Hasta 40'ın aile ağacının çizimi



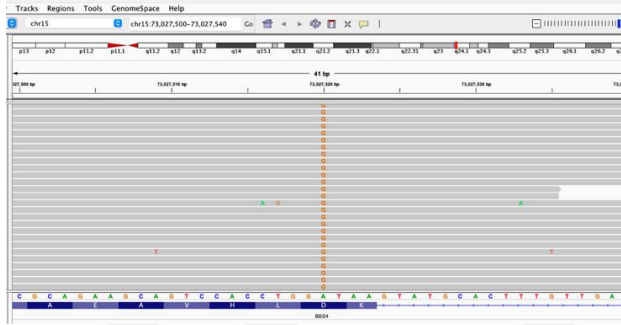
Şekil 29 CNGA1(NM_001379270.1) geninde homozigot c.947C>T (p.Ser316Phe) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 44'ün klinik bulguları ve genetik analizleri

16 yaşında kız hasta. Prenatal dönemde yapılan ayrıntılı ultrasonografide sol böbrek pelvisinde kaliektazi tespit edildi. Postnatal dönemde yapılan fizik muayenesinde sol ayakta polidaktili saptandı. Gelişim parametreleri yaşitlarına göre geri olan hasta, desteksiz oturmaya 8 aylıkken, yürümeye 15 aylıkken, konuşmaya 3 yaşındayken başladı. 9 yaşında yapılan tetkiklerinde sol böbrekte skar tespit edildi. Az görme şikayetiyle başvurduğu göz bölümünde yapılan VEP ERG tetkikleri sonucunda RP tanısı konuldu. Aile öyküsünde anne ve baba arasında 1. Kuzen evliliği vardı (Şekil 30). Yapılan genetik incelemesinde *BBS4*(NM:001252678) geninde homozigot c.587A>G (p.Asp196Gly) varyantı saptandı (Şekil 31). Clinvar'da olası patojenik/VUS olarak bildirilen varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PP3, PP5) olarak değerlendirildi. *BBS4* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 615982) Bardet Biedl Sendromu tip 4 ile ilişkilendirilmiştir. Segregasyon çalışmasında anne vefat ettiği için değerlendirilemedi. Babada aynı varyant heterozigot olarak saptandı. |



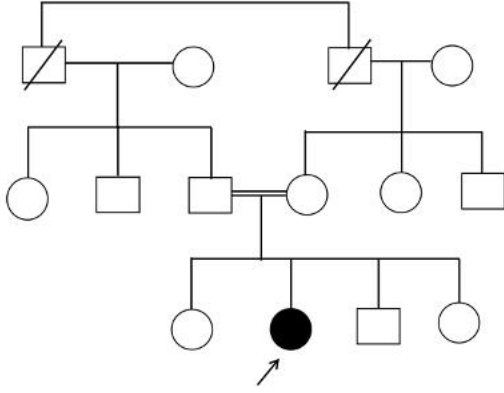
Şekil 30: Hasta 44'ün aile ağacının çizimi



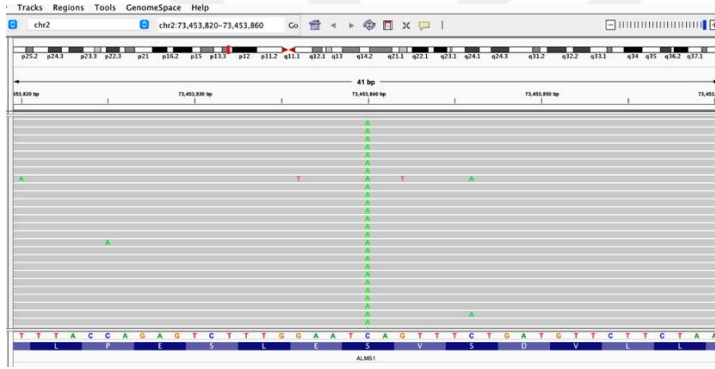
Şekil 31: *BBS4*(NM:001252678) geninde homozigot c.587A>G (p.Asp196Gly) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 47'nin klinik bulguları ve genetik analizleri

12 yaşında kız hasta. 5 aylıkken karında şişlik nedeniyle hastaneye başvurdu. Yapılan karın ultrasonunda hepatosplenomegali saptandı. 6 aylıkken yapılan göz muayenesinde her iki gözde nistagmus tanısı konuldu. Ayrıca VEP ERG sinde rod kon distrofisi saptandı. Gelişim basamaklarında gerilik olan hasta oturmaya 1 yaşındayken yürümeye 18 aylıkken konuşmaya 5 yaşındayken başladı. Hastanın ayrıca obezitesi ve öğrenme güçlüğü vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 32). Yapılan genetik incelemesinde *ALMS1*(NM:015120) geninde homozigot c.7313C>A (p.Ser2438*) varyantı saptandı (Şekil 33). Clinvar'da patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PM3, PP1, PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *ALMS1* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 203800) Alstrom Sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan segregasyon çalışmasında anne ve babası *ALMS1* genindeki varyant açısından heterozigot olarak saptandı.



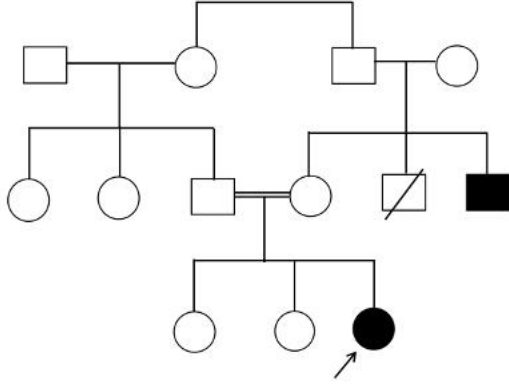
Şekil 32: Hasta 47'nin aile ağacının çizimi



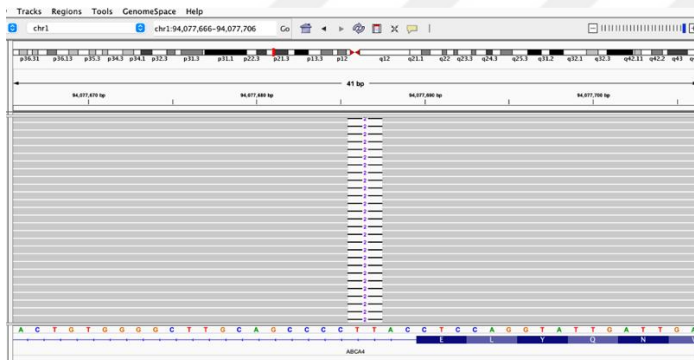
Şekil 33: *ALMS1*(NM:015120) geninde homozigot c.7313C>A (p.Ser2438*) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 55'in klinik bulguları ve genetik analizleri

13 yaşında kız hasta. 10 yaşındayken görmede azalma şikayetiyle hastaneye başvurdu. Hastanın yapılan elektrofizyolojik tetkiklerinde flash ERG de rod, kombine ve kon amplitüdlere düşük saptandı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 34). Ailede dayıda benzer öykü vardı. Yapılan genetik incelemede *ABCA4* (NM_000350.3) geninde homozigot c.1554+3_1554+4del varyantı saptandı (Şekil 35). Clinvar'da daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PP1) olarak değerlendirildi. Anne, baba ve dayıdan segregasyon planlandı.



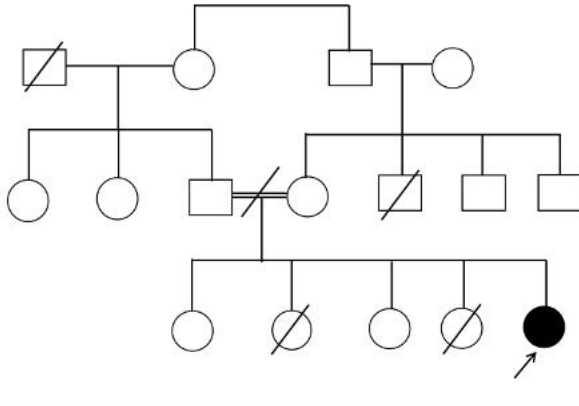
Şekil 34: Hasta 55'in aile ağacının çizimi



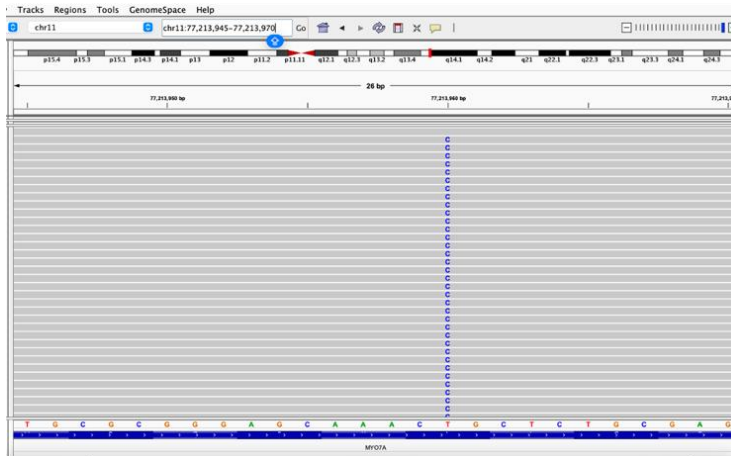
Şekil 35: *ABCA4* (NM_000350.3) geninde homozigot c.1554+3_1554+4del varyantının IGV görüntüsü

Hasta 56'nın klinik bulguları ve genetik analizleri

16 yaşında kız hasta. 1 yaşında yapılan işitme testinde %60 işitme kaybı saptandı. İlerleyen yaşlarda işitme kaybı arttığı için kohlear implant takıldı. 14 yaşındayken önünü görememe, sık düşme şikayetleri başlaması üzerine göz bölümüne başvurdu. Göz tetkikleri sonrasında RP tanısı konuldu. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 36). Yapılan genetik incelemede *MYO7A*(NM:000260.4) geninde homozigot c.6539T>C (p.Leu2180Pro) varyantı saptandı (Şekil 37). Clinvar'da daha önce bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP3, PM1, PM2) olarak değerlendirildi. *MYO7A* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 276900) Usher Sendromu tip 1B ile ilişkilendirilmiştir. Anne baba segregasyon çalışması planlandı.



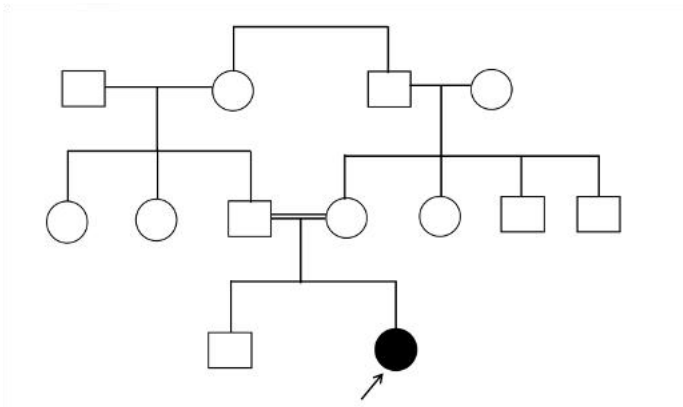
Şekil 36: Hasta 56'nın aile ağacının çizimi



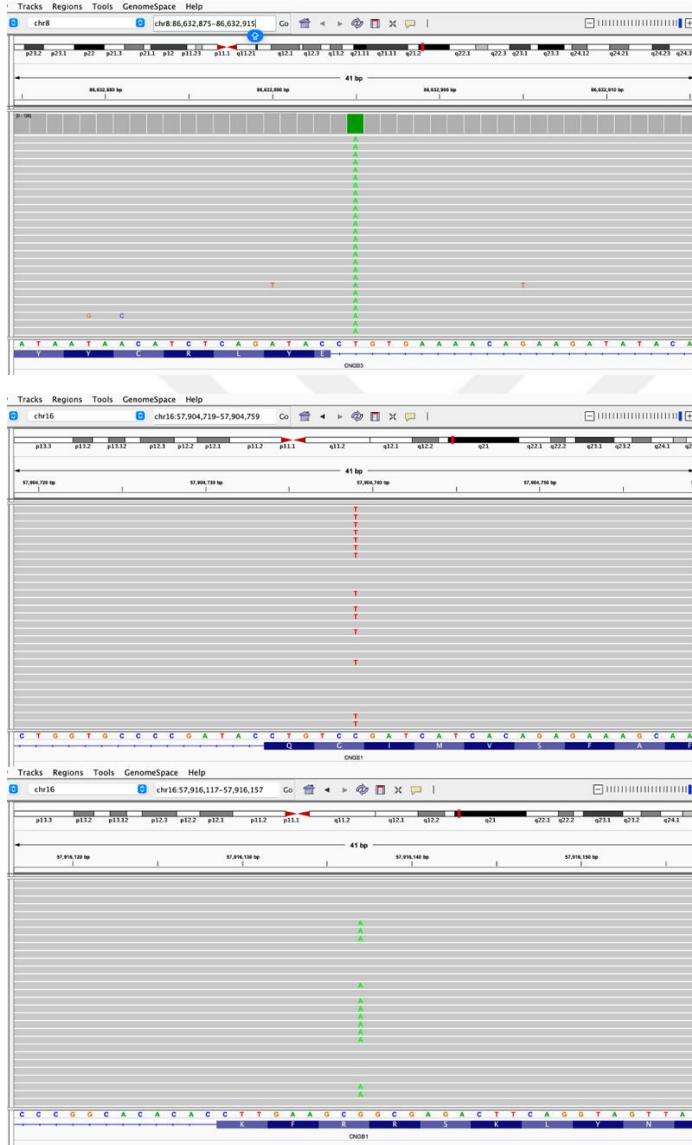
Şekil 37: *MYO7A*(NM:000260.4) geninde homozigot c.6539T>C (p.Leu2180Pro) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 62'nin klinik bulguları ve genetik analizleri

17 yaşında kız hasta. 6 aylıkken az görme ve şaşılık nedeniyle hastaneye başvurdu. Yapılan göz muayenesi ve tetkikleri sonrasında renk körlüğü, nistagmus ve kon distrofisi tanısı konuldu. 13 yaşından itibaren aşırı kilo alımı vardı ve obezite tanısıyla çocuk endokrinden takipliydi. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 38). Ailede benzer öyküsü olan kimse yoktu. Yapılan genetik incelemesinde *CNGB3*(NM:019098) geninde homozigot c.1179-2A>T varyantı saptandı (Şekil 39). Clinvar'da daha önce olası patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PP5, PM2) olarak değerlendirildi. *CNGB3* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 262300) Akromatopsi tip 3 ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca *CNGB1*(NM:001297) geninde heterozigot c.2629G>A (p.Gly877Arg) varyantı saptandı (Şekil 39). Clinvar'da Patojenik/olası patojenik bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP3, PM2, PP5) olarak değerlendirildi. Ayrıca *CNGB1*(NM:001297) geninde heterozigot c.2209C>T (p.Arg737Cys) varyantı saptandı. (Şekil 39) Clinvar'da VUS olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre VUS (PM2, BS2) olarak değerlendirildi. *CNGB1* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 613767) Retinitis Pigmentosa tip 45 ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyantlar açısından aile segregasyonu planlandı.



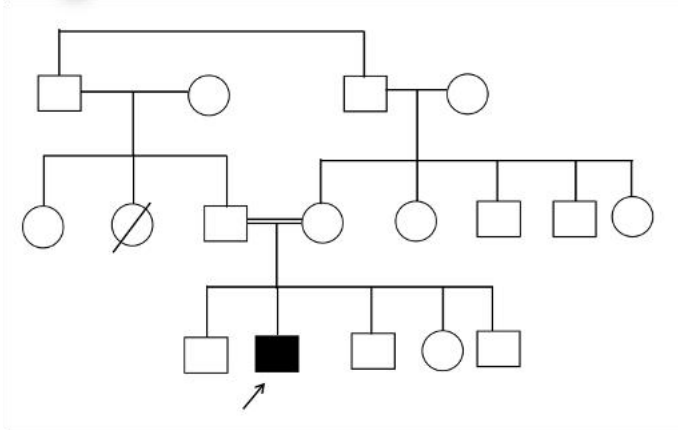
Şekil 38: Hasta 62'nin aile ağacının çizimi



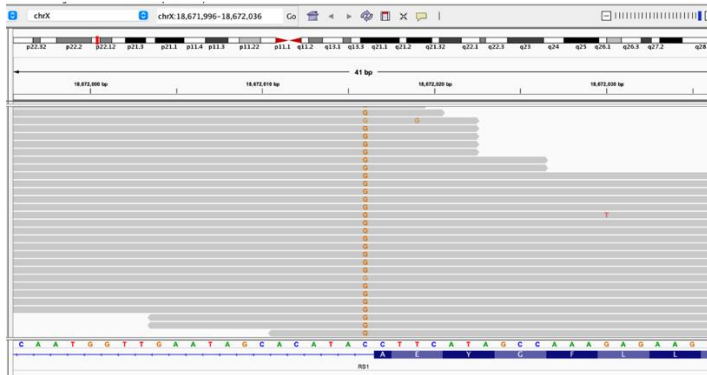
Şekil 39: *CNGB3* ve *CNGB1* genindeki varyantların IGV görüntüleri

Hasta 65'in klinik bulguları ve genetik analizleri

34 yaşında erkek hasta. 20 yaşında uzağı görmede zorluk şikâyeti başladı. Son 3 yıldır şikayetlerinde artış vardı. Anamnezde uçuşan cisimler gördüğünü tarifleyen hastanın yapılan göz tetkikleri sonucunda hastaya Retinoskizis ön tanısı konuldu. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 40). Yapılan genetik incelemesinde *RS1*(NM:000330) geninde hemizigot c.52+1G>C varyantı saptandı (Şekil 41). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *RS1* genindeki varyantlar OMIM'de (#OMIM: 312700) X'e bağlı çekinik kalıtılan Retinoskizis ile ilişkilendirilmiştir. Anneden segregasyon çalışması planlandı.



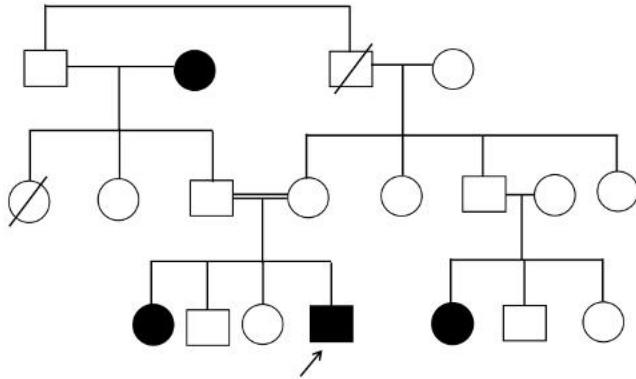
Şekil 40: Hasta 65'in aile ağacının çizimi



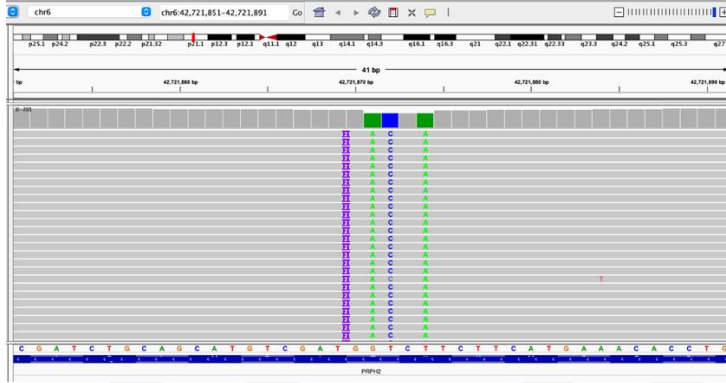
Şekil 41: *RS1*(NM:000330) geninde hemizigot c.52+1G>C varyantının IGV görüntüsü

Hasta 66'nın klinik bulguları ve genetik analizleri

2 yaşında erkek hasta. 5 aylıkken hastanın az gördüğünü fark eden ailesi hastaneye başvurdu. Yapılan elektrofizyolojik tetkiklerinde flash ERG de Rod yanıtları ve Kon amplitüdlere alınamadı. Flash VEP'inde P2 dalgasının amplitüdlere her iki gözde düşük saptandı. Anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 42). Ayrıca ailede abla, babaanne ve kuzeninde benzer öykü vardı. Yapılan genetik incelemesinde *PRPH2*(NM_000322) geninde homozigot c.461_464delinsTGGTCT (p.Lys154Metfs*103) varyantı saptandı (Şekil 43). Clinvar'da daha önce patojenik olarak bildirilen varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PP5, PM2) olarak değerlendirildi. *PRPH2* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 608133) Leberin Konjenital Amorozisi tip 18 ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyant açısından segregasyon çalışması planlandı.



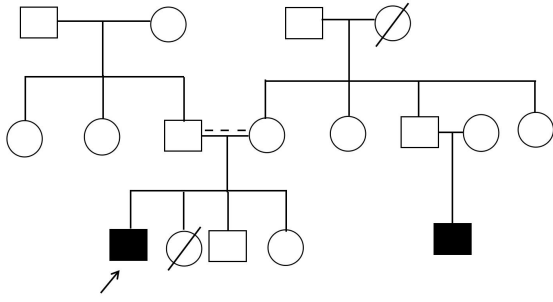
Şekil 42: Hasta 66'nın aile ağacının çizimi



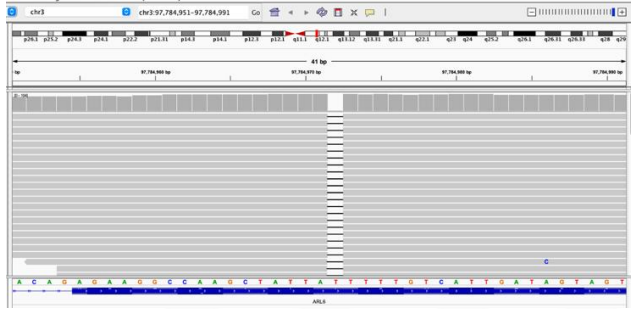
Şekil 43: *PRPH2*(NM_000322) geninde homozigot c.461_464delinsTGGTCT (p.Lys154Metfs*103) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 72'nin klinik bulguları ve genetik analizleri

20 yaşında erkek hasta. 10 yaşındayken geceleri görmesinde azalma şikayetleri başladı. Yapılan flash VEP ERG sinde rod kon distrofisi saptanarak RP tanısı kondu. Hastanın ayrıca obezitesi ve öğrenme güçlüğü vardı. Aile öyküsünde annesi ve babası akraba değildi ancak aynı köylüydü (Şekil 44). Ailede benzer şekilde RP, obezitesi ve ilave olarak polidaktilisi olan bir kuzeni vardı. Yapılan genetik incelemesinde *ARL6*(NM_001278293) geninde homozigot c.276del (p.Phe92Leufs*9) varyantı saptandı (Şekil 45). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *ARL6* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 600151) Bardet Biedl Sendromu tip 3 ile ilişkilendirilmiştir. Anne, baba ve kuzeninden segregasyon çalışması planlandı.



Şekil 44: Hasta 72'nin aile ağacının çizimi



Şekil 45: *ARL6*(NM_001278293) geninde homozigot c.276del (p.Phe92Leufs*9) varyantının IGV görüntüsü

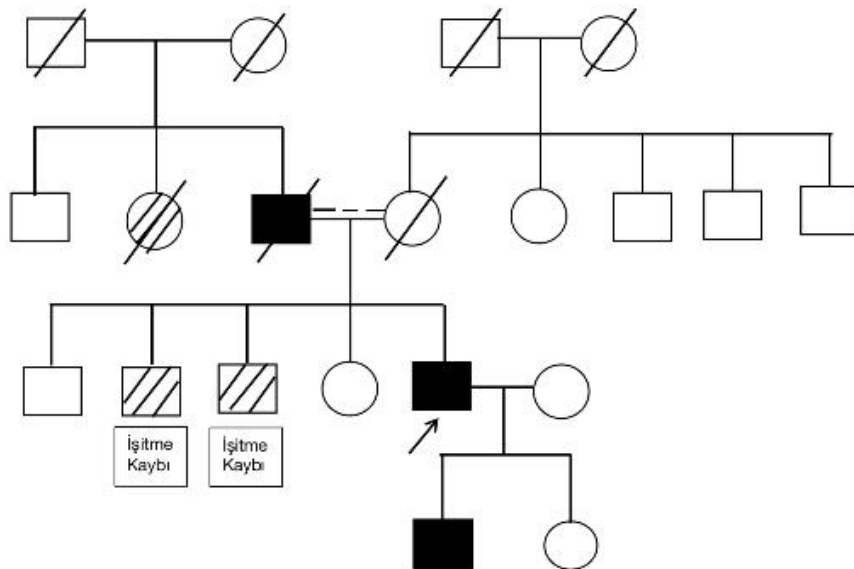
Hasta 76'nın klinik bulguları ve genetik analizleri

36 yaşında erkek hasta. 17 yaşında gece görmesinde azalma olduğunu fark ederek göz doktoruna başvurdu. Yapılan muayene ve tetkikler sonucunda RP ve katarakt tanısı konuldu. Hastanın ayrıca sol kulağında işitme kaybı vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında akrabalık yoktu (Şekil 46). Kardeşi, yeğeni, babası ve babaannesinde benzer öykü vardı. Yapılan genetik incelemesinde *RHO*(NM:000539) geninde heterozigot c.403C>T (p.Arg135Trp) varyantı saptandı (Şekil 47). Daha önce Clinvar'da patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PP5, PM1, PM5, PP3, PM2) olarak değerlendirildi. *RHO* genindeki

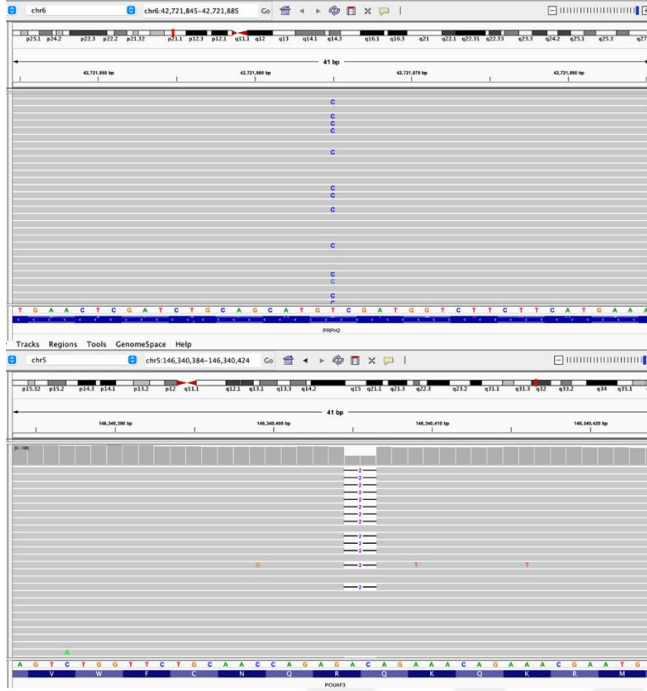
The screenshot displays the Genomespace web interface with two tracks. The left track is for chromosome 3 (chr3) with coordinates 129,530,897 to 129,530,937. The right track is for chromosome 6 (chr6) with coordinates 33,172,082 to 33,172,122. Both tracks show a 41 bp region with a red vertical bar indicating a variant. The bottom track shows the reference sequence for COL11A2 and COL11A1 genes.

67

51 yaşında erkek hasta. 40 yaşındayken görmesinde azalma fark ederek göz doktoruna başvurdu. Yapılan muayene ve tetkikler sonucunda RP tanısı konuldu. Hastanın ayrıca her iki kulağında işitme kaybı vardı. Aile öyküsünde anne ile baba akraba değildi ancak aynı köydendi (Şekil 48). Oğlunda ve babasında RP, 3 kardeşinde ve halasında işitme kaybı öyküsü vardı. Yapılan genetik incelemesinde *PRPH2*(NM:000322) heterozigot c.470A>G (p.Asp157Gly) varyantı saptandı (Şekil 49). Daha önce Clinvar’da olası patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PS4, PP3, PM2, PM5, PP2) olarak değerlendirildi. *PRPH2* genindeki varyantlar OMIM’de (#OMIM: 608133) OD kalıtlı Retinitis Pigmentosa tip 7 ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca *POU4F3*(NM_002700) geninde heterozigot c.979_980del (p.Gln327Glufs*131) varyantı saptandı (Şekil 49). Daha önce Clinvar’da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *POU4F3* genindeki patojenik varyantlar OMIM’de (#602459) OD kalıtlı işitme kaybı tip 15 ile ilişkilendirilmiştir. Anne baba ve ailede benzer öyküsü olan bireylerden segregasyon planlandı.



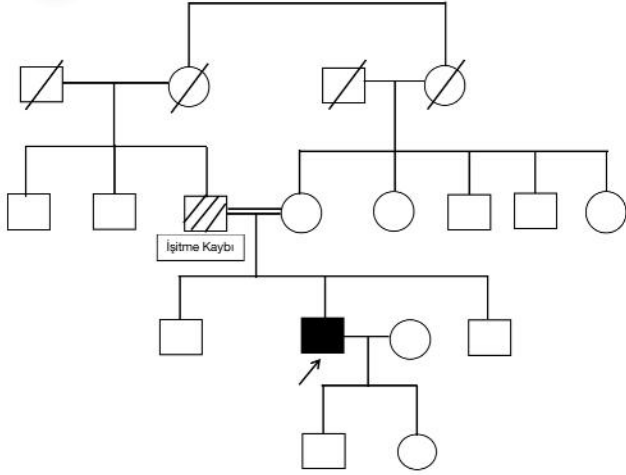
68



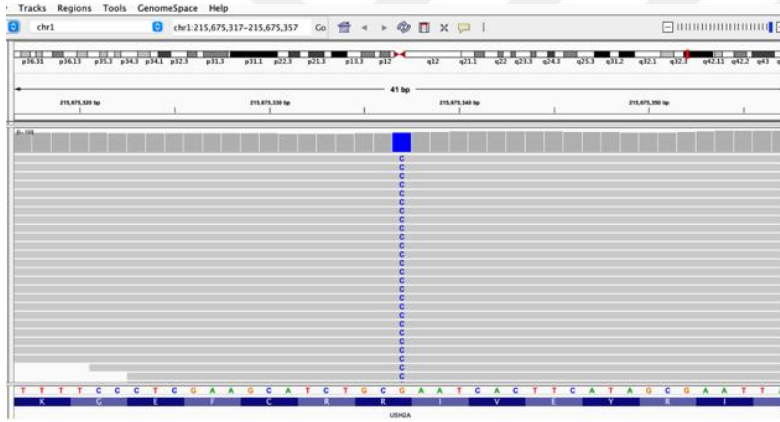
Şekil 49: *PRPH2*(NM:000322) heterozigot c.470A>G (p.Asp157Gly) varyantının ve *POU4F3*(NM_002700) geninde heterozigot c.979_980del (p.Gln327Glufs*131) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 78'in klinik bulguları ve genetik analizleri

38 yaşında erkek hasta. 20 yaşında askerdeyken karanlıkta az gördüğü saptandı. Yapılan göz muayenesi ve tetkikleri sonucu RP tanısı konuldu. Hastanın özgeçmişinde diabetes mellitus ve işitme kaybı vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 50). Ailede babasında işitme kaybı vardı. Yapılan genetik incelemesinde *USH2A*(NM:206933) geninde homozigot c.12574C>G (p.Arg 4192Gly) varyantı saptandı (Şekil 51). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM5, PM1, PM2, BP4) olarak değerlendirildi. *USH2A* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 276901) Usher Sendromu tip 2A ile ilişkilendirilmiştir. Anne ve babadan segregasyon çalışması planlandı.



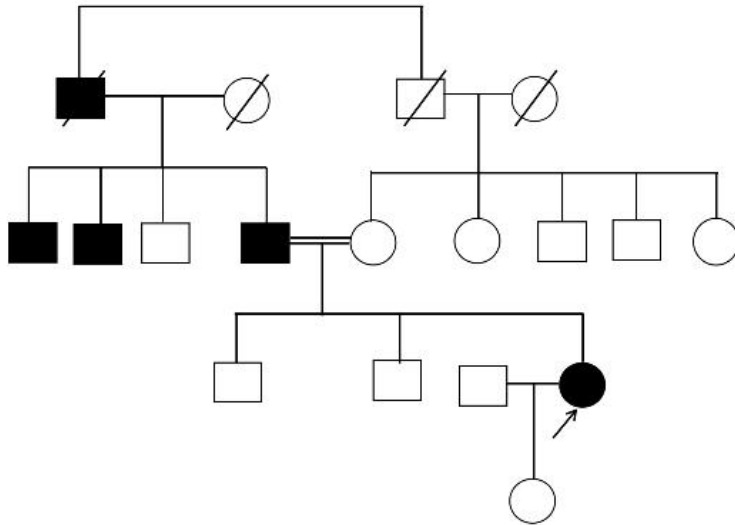
Şekil 50: Hasta 78'in aile ağacının çizimi



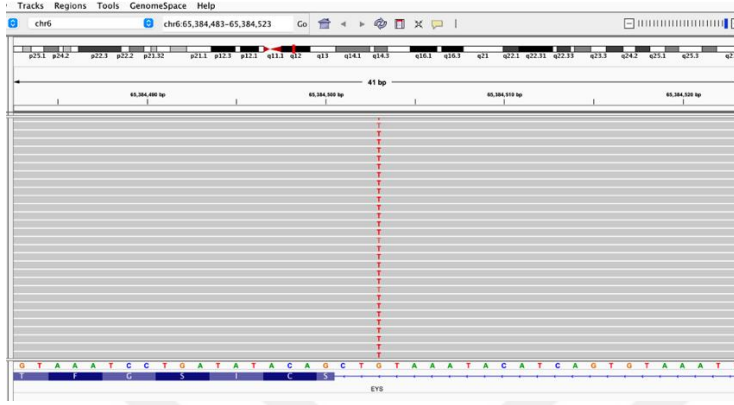
Şekil 51: *USH2A*(NM:206933) geninde homozigot c.12574C>G (p.Arg 4192Gly) varyantının IGV görüntüsü

Hasta 83 'ün klinik bulguları ve genetik analizleri

39 yaşında kadın hasta. 16 yaşındayken gece görmede zorlandığını fark etmesi üzerine hastaneye başvurdu. Yapılan göz muayenesi ve tetkikleri sonucunda astigmat, RP ve katarakt tanısı konuldu. 27 yaşında katarakt nedeniyle opere olan hastanın başka bilinen bir hastalığı bulunmuyordu. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 52). Ailede babasında, 2 amcasında ve vefat eden dedesinde benzer öykü var. Yapılan genetik incelemede *EYS* (NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantı saptandı (Şekil 53). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP1, PP4, PM2, PP3) olarak değerlendirildi. *EYS* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 602772) Retinitis Pigmentosa tip 25 ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyant için anne, baba ve aile etkilenmiş bireylerden segregasyon planlandı.



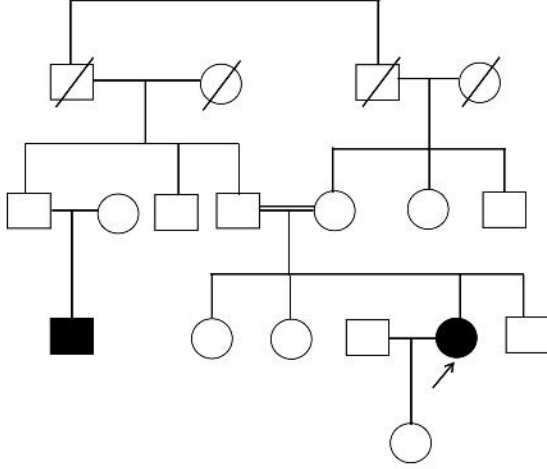
Şekil 52: Hasta 83'ün aile ağacının çizimi



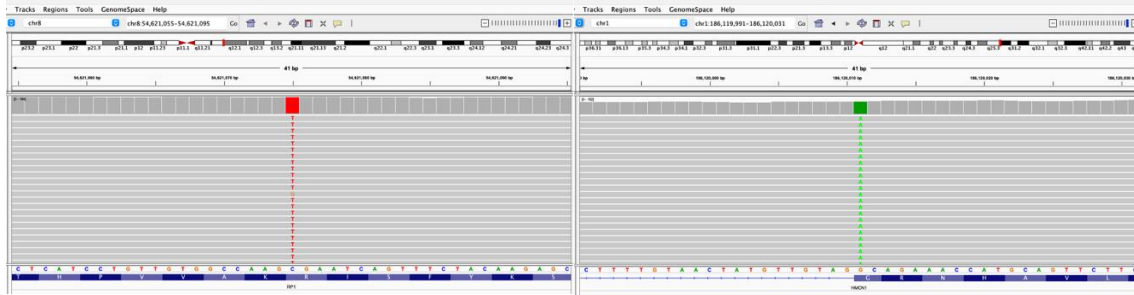
Şekil 53: *EYS*(NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantının IGV görüntüsü

Hasta 85'in klinik bulguları ve genetik analizleri

51 yaşında kadın hasta. 10 yaşında gece görmesinde azalma başladı. Göz muayene ve tetkiklerinde sağ gözün %20 sol gözün %5 gördüğü saptandı. Ayrıca makula atrofik, periferde kemik spikülleri vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında 1. kuzen evliliği vardı (Şekil 54). Ailede kuzeninde benzer öykü vardı. Yapılan genetik incelemede *RPI*(NM:006269) geninde homozigot c.109C>T (p.Arg37*) varyantı saptandı (Şekil 55). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *RP1* genindeki biallelik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 180100) Retinitis Pigmentosa tip 1 ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca *HMCN1*(NM:031935) geninde homozigot c.12095G>A (p.Gly4032Asp) varyantı saptandı (Şekil 55). Daha önce Clinvar'da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM2, PP3) olarak değerlendirildi. *HMCN1* genindeki patojenik varyantlar OMIM'de (#OMIM: 603075) OD kalıtlı yaşa bağlı makula dejenerasyonu tip 1'e yatkınlık ile ilişkilendirilmiştir. Saptanan varyantlar açısından aile segregasyonu planlandı.



Şekil 54: Hasta 85'in aile ağacının çizimi

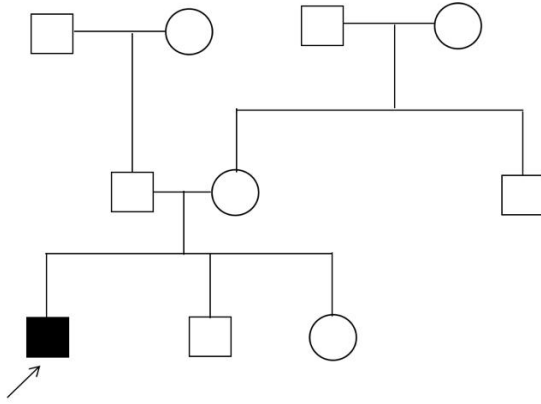


Şekil 55: *RPI*(NM:006269) geninde homozigot c.109C>T (p.Arg37*) varyantının ve *HMCN1*(NM:031935) geninde homozigot c.12095G>A (p.Gly4032Asp) varyantının IGV görüntüleri

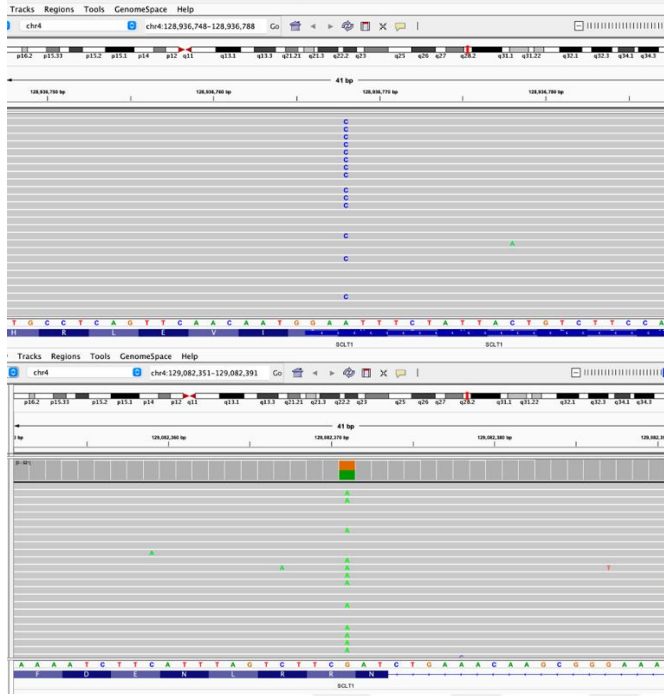
Hasta 86'nın klinik bulguları ve genetik analizleri

30 yaşında erkek hasta. 12 yaşında okulda yapılan göz taramasında uzağı görmekte zorlanan hastanın yapılan göz muayenesi ve tetkiklerinde miyop, RP tanısı konuldu. Hastanın ayrıca zeka geriliği ve obezitesi vardı. Aile öyküsünde anne ile baba arasında akrabalık bulunmuyordu (Şekil

56). Yapılan genetik incelemesinde *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.37C>T (p.Arg13*) varyantı saptandı. Daha önce Clinvar’da patojenik olarak bildirilen varyant ACMG kriterlerine göre patojenik (PVS1, PM2, PP5) olarak değerlendirildi. Ayrıca *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.1716T>G (p.Asn572Lys) varyantı saptandı (Şekil 57). Daha önce Clinvar’da bildirilmemiş olan varyant ACMG kriterlerine göre VUS (BP4, BP1, PM2, PP4) olarak değerlendirildi. Saptanan varyantlar açısından segregasyon planlandı.



Şekil 56: Hasta 86’nın aile ağacının çizimi



Şekil 57: *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.37C>T (p.Arg13*) varyantı ve heterozigot c.1716T>G (p.Asn572Lys) varyantının IGV görüntüleri

5. TARTIŞMA

Kalıtsal retinal distrofi hastalarının moleküler analizi, klinik ve genetik olarak oldukça heterojen özelliklere sahip olan bu hastalık grubunun genetik ve moleküler temellerini anlamamıza önemli katkı sağlamaktadır.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 94 hastanın 77'sine (%81) tanı konulmuştur. Literatürdeki güncel çalışmalarda tanı oranları %70-80 arasında bildirilmiştir [4, 5]. Bu çalışmalardan biri 2023 yılında Peter ve arkadaşları ile 230 Portekizli KRD hastasıyla yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada hastaların %76'sına tanı konulmuştur [4, 5]. 2023 yılında Erdem ve arkadaşlarının 118 Türk kökenli RP hastası üzerinde yaptıkları çalışmada ise tanı oranı %79,6 olarak bildirilmiştir [158]. Bu açıdan tanı oranımız güncel literatürle uyumlu saptanmıştır.

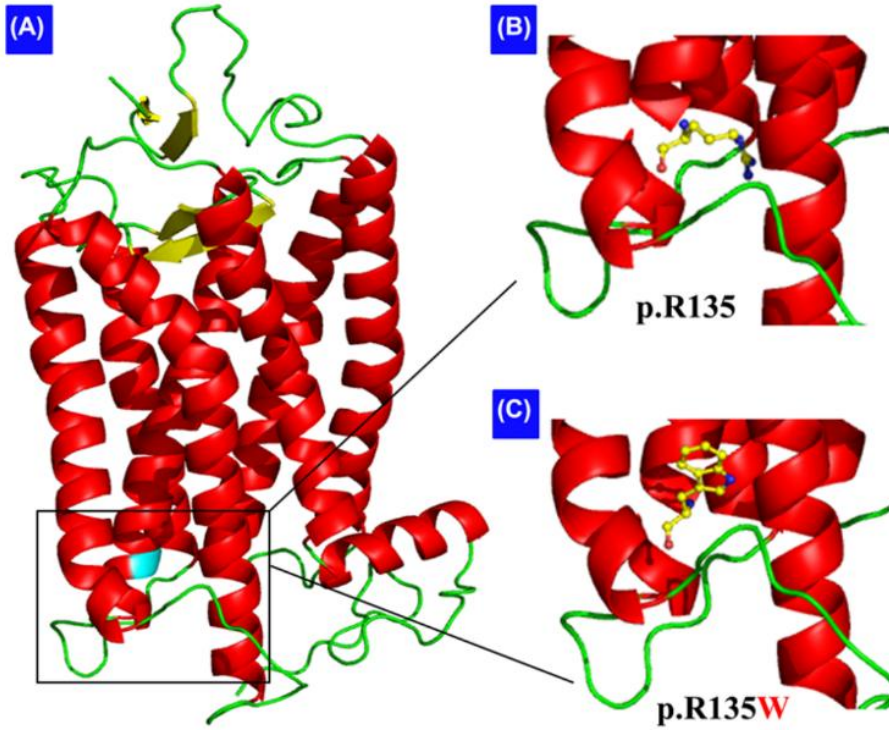
Çalışmaya dahil edilen 94 hastada 58 (%52,25) patojenik, 39 (%35,14) olası patojenik ve 14 (%12,6) VUS olarak sınıflandırılabilen 111 varyant saptanmıştır. Bunlardan 32 tanesi (%29) daha önce literatürde bildirilmemiş varyantlar olup çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır. Saptanan varyantların detaylı değerlendirilmesi sendromlara göre aşağıda detaylı şekilde yapılmıştır.

5.1. Retinitis Pigmentosa ile İlişkili Varyantlar

Çalışmamızda tanı konulan hastalardan 29 tanesine Retinitis Pigmentosa tanısı konuldu (%30). Bu hastalardan 11 tanesinde saptanan varyantlar daha önce literatürde bildirilmemiş patojenik varyantlardı. Bu çalışmayla literatüre kazandırılmıştır.

Hastalardan ikisinde (Hasta 75 ve 76) *RHO* geninde patojenik varyant saptandı. RP ve katarakt öyküsü olan hastada (Hasta 75) *RHO* geninde heterozigot c.491C>T (p.Ala164Val) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant ilk olarak Fuchs ve arkadaşları tarafından Avustralyalı bir ailede rod kon distrofisi olan bireyde bildirilmiştir [159]. Daha sonra yapılan fonksiyonel çalışmalar bu

missense (yanlış anlam) değişikliğin RHO işlevini etkilediğini göstermiştir [160]. RP ve işitme kaybı öyküsü olan hastada (Hasta 76) *RHO* geninde heterozigot c.403C>T (p.Arg135Trp) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant daha önce Çinliler, Koreliler, Fransızlar, İsveçliler, Türkmenistanlılarda bildirilmiştir [161-163]. (p.Arg135Trp) patojenik varyantı iyonik etkileşimleri bozabilir ve kısmi yanlış katlanmaya ve mutant proteinin 11-cis-retinal bağlama yeteneğinin azalmasına neden olabilir (Şekil 58) [164]. (p.Arg135Pro), (p.Arg135Leu), (p.Arg135Gly) ve (p.Arg135Trp) dahil olmak üzere bildirilen diğer birkaç patojenik varyant ile birlikte 'sıcak' bir patojenik varyant (hot-spot) bölgesi olduğu düşünülmektedir [161, 165, 166]. (p.Arg135) tabanlı mutantlar rodopsin kinaz tarafından fosforile edilir ve arrestini bağlar, ancak 11-cis-retinal yokluğunda transdüsini aktive edemez [167]. Bu patojenik varyantlar arasında (p.Arg135Trp), glikozilasyon durumu daha kusurlu olduğu için (p.Arg135Leu)'den daha ciddi ve hızlı ilerleyen bir RP'ye yol açar [168]. Son olarak in vitro olarak yapılan çalışmalarda, sığır (p.Arg135Trp) rodopsin mutantlarının vahşi tip rodopsinin aksine G protein aktivasyonunu bozduğu saptanmıştır [167].



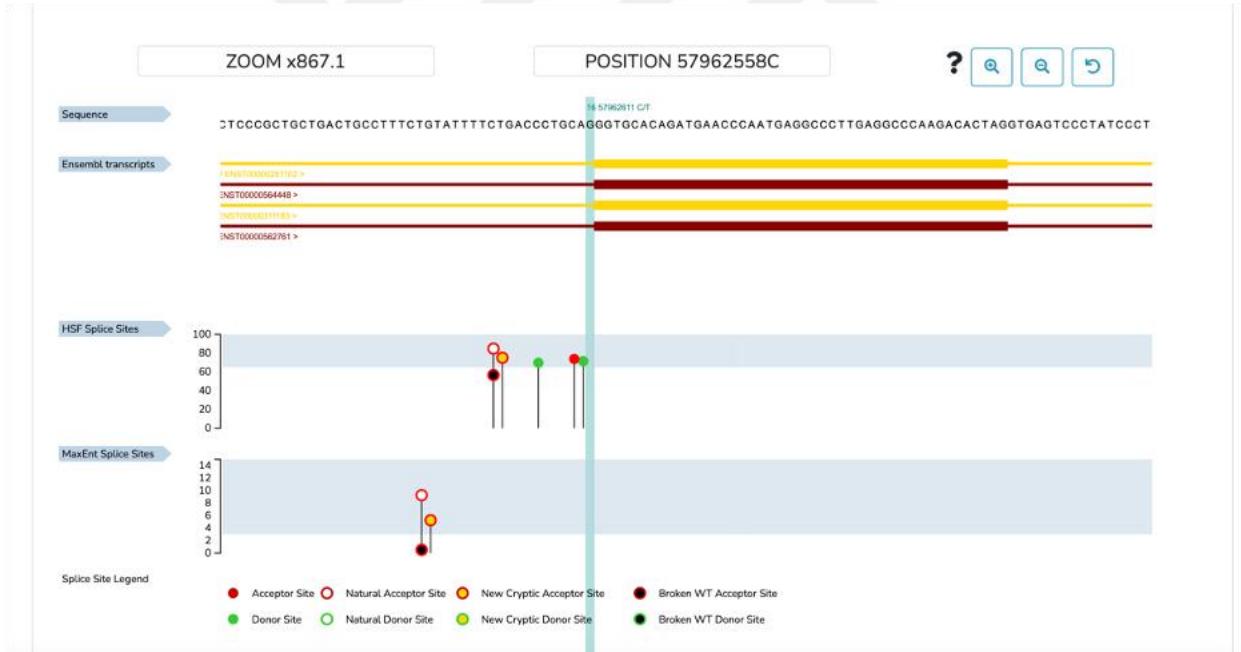
Şekil 58: (A) Rodopsin proteininin genel yapısı üç boyutlu olarak gösterilmiştir. (B,C) 135. pozisyonundaki amino asitler, arginin (B) ve mutasyona uğramış triptofan (C), top ve çubuk modelleri olarak gösterilmiştir[166].

Literatürde *RHO* geninde 170'i yanlış anlamlı (missense) ve anlamsız (nonsense) olmak üzere 200 den fazla patojenik varyant bildirilmiştir [29]. Rodopsin mutantları, 11-cis-retinaldehit etkileşiminde bir dizi eksiklik sergiler ([168, 169]. Yapılan hücre kültürü çalışmalarına dayanarak 11-cis-retinaldehit kromoforunu bağlama yeteneklerine göre belirlenmiş iki rodopsin patojenik varyant sınıfı vardır [170]. Sınıf I mutantları normal rodopsin oluşturmak için 11-cisretinaldehit ile yeniden birleşebilir ve hücre yüzeyine taşınır. Sınıf II mutantlar endoplazmik retikulum (ER)'de lokalize olur ve fonksiyonel rodopsin oluşturmak için 11-cis-retinaldehit ile yeniden birleşemez veya 11-cis-retinaldehiti zayıf bir şekilde bağlar. Rodopsin patojenik varyantları, farklı mekanizmalar yoluyla fotoreseptör ölümüne veya işlev bozukluğuna yol açan protein yanlış katlanmasına ve ER retansiyonuna, yanlış yapışmaya, değişmiş posttranslasyonel modifikasyonlara ve azalmış stabiliteye ve yapısal etkiye neden olabilir [21].

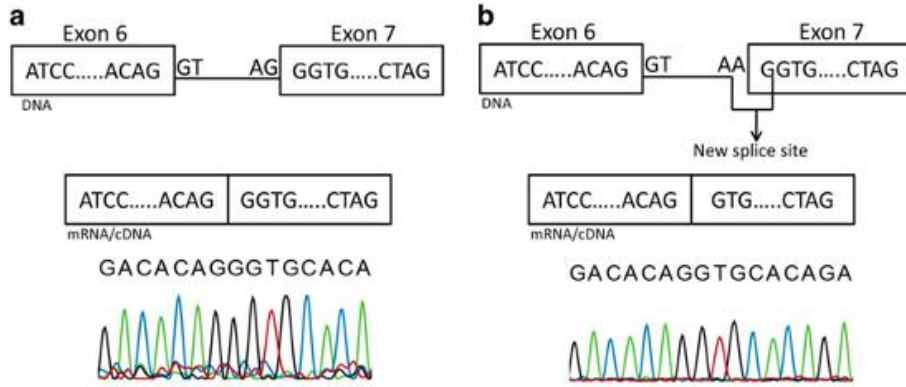
Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan 4 tanesinde (Hasta 50, 79, 92, 96) fototransdüksiyon kaskadında rol alan *PDE6B* geninde varyant tespit edildi. Bu hastalardan 92 numaralı hastada *PDE6B* geninde homozigot c.1935C>G (p.Tyr645*) varyantı saptandı. Bu varyant literatürde daha önce bildirilmemiş bir varyanttı. 16. ekzonda erken dur kodonu (stop kodon) oluşturarak protein fonksiyonunu etkilediği düşünülen varyant ACMG kriterlerine göre değerlendirildiğinde olası patojenik (PVS1, PM2) olarak sınıflandırıldı. 96 numaralı hastada ise *PDE6B* geninde homozigot c.243del (p.Arg82Alafs*68) varyantı saptandı. Bu varyant çerçeve kaymasına yol açarak protein sonlanmasına neden olan bir varyanttı. Daha önce literatürde bildirilmeyen bu varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Her iki varyant da çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır.

2 hastada (Hasta 40, 53) ise yine fototransdüksiyon kaskadında rol alan plazma zarındaki cGMP kapılı katyon kanallarının alt birimlerini kodlayan *CNGA1* ve *CNGB1* geninde patojenik varyant saptandı. 40 numaralı hastada *CNGA1* (NM_000087) geninde homozigot c.959C>T

(p.Ser320Phe) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bir çok hastada patojenik ya da olası patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı [171]. 53 numaralı hastada ise *CNGB1*(NM_001297.5) geninde homozigot c.413-1G>A varyantı saptandı. Bu varyantın alıcı bölgede kırılma noktasını bozacak şekilde etki ettiği tahmin edilmektedir (Şekil 59) ve daha önce Clinvar'da patojenik ve olası patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttır. Saqib ve arkadaşlarının yaptığı hücre kültürü çalışmasında, HeLa hücrelerinin bu değişikliği ve vahşi tip muadilini taşıyan minigen yapılarla transfeksiyonu, IVS6-1G>A'nın doğal 5' kırılma bölgesini yıkarak ve intron 6'nın alıcı dizisinin sadece bir baz çifti aşağısında kriptik bir kırılma bölgesinin kullanımını ortaya çıkararak ekzon 7'nin eklenmesini etkilediğini ortaya koymuştur (Şekil 60) [172]. Bu olayın ekzon 7'nin ilk nükleotidinin kaybına yol açarak -1 çerçeve kayması ve 413 baz aşağısında erken bir stop kodunu ürettiği bildirilmiştir [172].



Şekil 59: *CNGB1*(NM:NM_001297.5) geninde homozigot c.413-1G>A varyantının HSF’de analizinin görüntüsü. Alıcı bölgede kırılma noktasını bozacak şekilde etki ettiği tahmin edilmektedir.



Şekil 60: Kırpılma alıcı bölgesindeki c.413-1G>A patojenik varyantının CNGB1 mesajcı RNA üzerindeki etkisinin şematik gösterimi. Kontrol DNA'sından elde edilen bir yapıdan cDNA dizisi panel a'da, c.413-1G>A varyantını taşıyan bir yapıdan alınan cDNA ise panel b'de gösterilmiştir [172].

RP ve işitme kaybı olan 77 numaralı hastada *PRPH2*(NM:000322) geninde heterozigot c.470A>G (p.Asp157Gly) patojenik varyantı saptandı. Daha önce olası patojenik olarak bildirilmiş olan varyantın, PRPH2 proteininin 157. kodonunda asidik ve polar olan aspartik asidin nötr ve polar olmayan glisin ile yer değiştirmesi sonucu protein fonksiyonu üzerinde negatif bir etki oluşturabileceği düşünülmektedir. Ayrıca literatürde p.Asp157 pozisyonundaki farklı amino asit değişikliklerinin patojenik etki gösterdiği bildirilmiştir [173, 174].

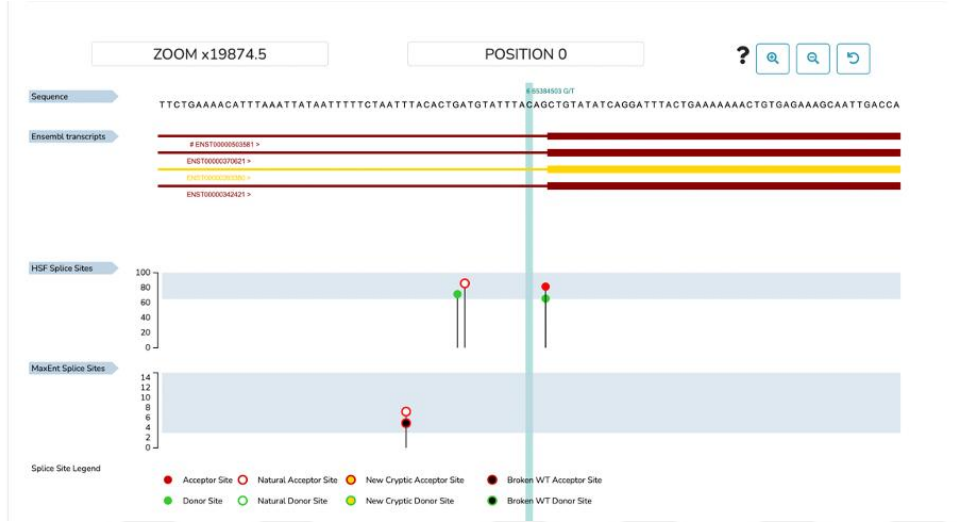
3 numaralı hastada *PROM1*(NM:001145847) geninde homozigot c.2023C>T (p.Arg675*) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant daha önce Lee ve arkadaşlarının yayınladığı çalışmada retinal distrofisi olan hastalarda bildirilmiştir [175]. Hastada ayrıca *PRPF8*(NM:006445) geninde heterozigot c.4980C>G (p.Tyr1660*) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyanttı, ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. PRPF8, pre-mRNA kırpılma işlemini gerçekleştiren moleküler gen ifadesi için kritiktir [176]. Xu ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmada HeLa hücrelerinin PRPF8 nakavt ile hipoksi tedavisinden sonra kontrol hücrelerine kıyasla daha az otofagozom oluşumu gösterdiği saptanmıştır [177]. Ayrıca mitofagozom oluşumunun başlatılmasında çok önemli bir rol oynayan ULK1'in mRNA

ifadesinin PRPF8 in düzenlediği gözlenmiştir. Sonuç olarak *PRPF8* geni, ULK1 mRNA kırılmasını düzenleyerek hipoksi ile indüklenen mitofaji için önemli bir rol üstlenmektedir.

2 hastada (Hasta 15 ve 85) *RPI* geninde patojenik varyant tespit edildi. Bunlardan 15 numaralı hastada *RPI*(NM:006269) geninde homozigot c.269del (p.His90Profs*26) patojenik varyantı mevcuttu. Bu varyant Jespersgaard ve arkadaşlarının 677 retinal distrofi hastasıyla yaptığı çalışmada bildirilmiş bir varyanttı [178]. 85 numaralı hastada ise *RPI*(NM:006269) geninde homozigot c.109C>T (p.Arg37*) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş varyantı, çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. *RPI* 8. Kromozomun uzun koluna yerleşimlidir. 4 ekzonlu bir gendir ve 2156 amino asitlik bir protein ürününü kodlar. *RPI*, hem rodların hem de konların dış segment aksoneminde bulunan ve dış segment membranöz disklerinin stabilitesi ve organizasyonu için gerekli olan fotoreseptöre özgü bir mikrotübül ilişkili proteini kodlar [67]. fotoreseptör dış segment disklerinin doğru şekilde yerleşmesini sağlar. *RPI* genindeki patojenik varyantlar için OMIM'de (#180100) hem OD hem de OR kalıtım şekli bildirilmiştir. Ve bazı popülasyon çalışmalarında RP'nin OR ve OD tiplerinin yaklaşık %10'unu oluşturdukları bildirilmiştir [179, 180]. *RPI* ile ilişkili RP'nin başlangıcı ve şiddeti kalıtım şekli ile ilişkilidir. *RPI* ile ilişkili OD RP'li bireylerde tipik olarak 20'li ve 30'lu yaşlarında azalmış periferik görme şikayetleri başlar ve 50'li ve 60'lı yaşlarında normale yakın görme keskinliğini koruma potansiyeline sahiptir. Buna karşılık, RP1 ilişkili OR RP tipik olarak 10 yaşından önce ortaya çıkar ve 20 yaşına kadar yasal körlükle sonuçlanabilen ikincil maküler tutulum ile karakterizedir [181]. Patojenik varyantların ekzon dağılımında OD RP nin kodon 500'den yaklaşık kodon 984'e kadar uzanan ekzon 4'teki mutasyonel bir sıcak noktaya düşer, ancak sadece birkaç varyant kodon 658'den önceki kodon bölgesindedir [182]. Ekzon 4 boyunca anlamsız (nonsense) ve çerçeve kayması mutasyonların, anlamsız aracılı yıkım (Nonsense mediated decay) mekanizmasından kaçarak güdük proteinl oluşumuna neden olması tahmin edilmektedir. Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hasta lenfoblastlarında bir RP1 kesilme (truncating) patojenik varyantına karşılık gelen mRNA tanımlanmış ve bir fare modelinde aksoneme doğru lokalize güdük protein bulunmuştur [183].

90 numaralı hastada *IMPG2*(NM_016247) geninde homozigot c.1491del (p.Leu498Cysfs*15) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Çalışmamızla literatüre kazandırıldı. *IMPG2* fotoreseptörler arası matrisin önemli bir bileşeni olan, hem çubuk hem de koni fotoreseptörleri tarafından bol miktarda salgılanan bir proteindir. *IMPG2*, glikozaminoglikanların (GAG'lar) yanı sıra N- ve O-bağlı oligosakkaritlerle yoğun bir şekilde glikozillenmiştir. Bu post-translasyonel modifikasyonların diğer fotoreseptörler arası matris bileşenlerini bağlamak, matrisi stabilize etmek ve dış segmentin büyümesini ve korunmasını desteklemek için önemli olduğu düşünülmektedir. *IMPG2* genindeki patojenik varyantlar hem OR kalıtmı retinitis pigmentosa tip 56 (OMIM:613586), hem de OD kalıtmı vitelliform Maküler distrofi tip 5 (#OMIM:616152) ile ilişkilendirilmiştir. Hastamız RP tip 56 tanısı almıştır.

83 numaralı hastada *EYS*(NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantı saptanmıştır. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP1, PP3, PP4, PM2) olarak değerlendirildi. Bu varyantın alıcı bölgede kırılma noktasını bozacak şekilde etki ettiği tahmin edilmektedir (Şekil 61). *EYS* geni 6. kromozomun uzun koluna yerleşimli genomik DNA'da 2 megabazlık yer kaplayan bir gendir. *EYS* geninin kodladığı *EYS* proteinin işlevi insanlarda henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, protein ürününün rod ve konlardaki siliyer aksonemlerin stabilizasyonunda rol oynadığı ve fotoreseptör hücrelerinin bakımında görev aldığı düşünülmektedir [79]. *EYS* genindeki patojenik varyantların OR RP hastalarının en az %5'ini etkilediği tahmin edilmektedir [184].



Şekil 61: *EYS*(NM_001142800) geninde homozigot c.1185-3C>A varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.

86 numaralı hastada *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.37C>T (p.Arg13*) patojenik varyantı saptandı. Ayrıca *SCLT1*(NM_144643) geninde heterozigot c.1716T>G (p.Asn572Lys) varyantı saptandı. Daha önce Clinvar’da bildirilmemiş olan bu varyant ACMG kriterlerine göre VUS (BP4, BP1, PM2, PP4) olarak değerlendirildi. 2013 yılında Tanos ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan *SCLT1* geni, ana sentriyol ile plazma zarı arasındaki bağlantıyı kuran sentrozomal bir uzantı olan distal uzantıların temel bir bileşeni olan proteini kodlamaktadır [185]. Ayrıca Tanos ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmalarla *SCLT1*’in siliyogenez için gerekli olduğunu ortaya koymuşlardır [185]. Adly ve arkadaşları ise *SCLT1* genindeki patojenik varyantların silyopati grubu hastalıklardan biri olan Orofasyodijital Sendrom tip 9 ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir [186]. 2016 yılında, de Castro-Miro ve arkadaşları kalıtsal retinal distrofi bulguları olan bir hastada *SCLT1* geninde birleşik heterozigosite formunda 2 varyant saptayarak *SCLT1* genindeki biallelik varyantları OR RP nin yeni bir alt tipi olabileceğini bildirmişlerdir [187]. Bizim hastamızda retinal distrofi bulguları olduğu için ve *SCLT1* geninde 2 farklı heterozigot varyant saptadığımız için hastanın tanısının RP nin yeni alt tipi olduğunu düşünmekteyiz. Literatüre OR RP nin yeni alt tipine sahip 2. hasta olarak kazandırılmıştır.

5.2. Leberin Konjenital Amorozi ile ilgili varyantlar

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan 10 tanesine LKA tanısı konuldu (%10,6). 10 hastada toplam 12 patojenik varyant saptandı. Bunlardan 8 tanesi daha önce literatürde patojenik olarak bildirilmiş varyant iken 4 tanesi çalışmamızla literatüre kazandırılmıştır. Hastalardan 3 tanesinde *RDH12* geni; 2'sinde ise *CRB1* geninde patojenik varyant saptanmıştır.

En ciddi kalıtsal retinal distrofilardan biri olan LKA, tipik olarak erken başlangıçlı görme kaybı, nistagmus ve amorotik pupiller ile ilişkilidir ve çocukluk çağı görme kaybının %20'sinden sorumludur. LKA, 30000 ila 81000 kişide 1'ini etkileyen ve KRD'lerin yaklaşık %5 ini oluşturan genetik olarak heterojen bir hastalıktır [188]. Retinal Bilgi Ağı'ndan alınan son veriler LKA ile ilişkili 26 gen bulunmaktadır [2]. Bunlar arasında *CEP290* (%15), *GUCY2D* (%12) ve *CRB1* (%10) ve *RPE65* (%8) en sık patojenik varyant bildirilmiş LKA genleridir [83]. Sıklık, hastaların etnik kökenine göre değişebilmektedir. *CEP290*, *GUCY2D* ve *RPE65*'deki patojenik varyantlar genellikle Kafkas popülasyonlarında daha sık görülmektedir [189]. Öte yandan, LKA vakalarının %13,6'sını oluşturan *CRB1*, Çin kohortlarında önde gelen nedensel genetik varyant olarak bildirilmiştir ve bunu *GUCY2D* takip etmektedir [86].

2 Hastada (Hasta 16 ve 38) *CRB1* geninde patojenik varyant saptandı. 16 numaralı hasta 1 yaşında kız hasta. Nistagmus, şaşılık bulguları vardı ve Flash ERG'de rod kon yanıtları alınamadı. 38 numaralı hasta 14 yaşında kız hasta. Doğduktan sonra şaşılığı fark edilen hastanın ilerleyen yıllarda az görme, yakını görememe şikayetleri vardı. Yapılan göz tetkikleri retinal distrofiyle uyumlu olarak raporlandı. Her iki hastada da *CRB1*(NM:201253) geninde homozigot c.2230C>T p.Arg744* patojenik varyantı saptandı. Bu varyant ilk olarak Kuniyoshi ve arkadaşları tarafından 2014 yayınlanan çalışmada erken başlangıçlı retinal distrofisi olan Japon hastada bildirilmiştir [190]. Protein sonlanmasına yol açan anlamsız (nonsense) aminoasit

değişikliğinin nonsense-mediated decay (NMD) veya protein yapımının kesilmesi yoluyla normal protein fonksiyonunun kaybına veya bozulmasına neden olduğu tahmin edilmektedir.

3 Hastada (Hasta 17, 21, 51) *RDH12* geninde patojenik varyant saptandı. 17 numaralı hastada *RDH12*(NM:152443) geninde homozigot c.295C>A p.Leu99Ile varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bir çok farklı çalışmada retinal distrofi hastalarında hastalık yapıcı etkisi olduğu bildirilmiş patojenik varyanttı. 21 numaralı hastada *RDH12*(NM:152443) geninde homozigot c.444C>A (p.His148Gln) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyant olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM1, PP2, PM2, PP3) olarak değerlendirildi. Çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. 51 numaralı hastada *RDH12*(NM:152443) geninde homozigot c.379G>T (p.Gly127*) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant Clinvar'da birden fazla patojenik, olası patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı. Literatürde *RDH12* geninde 120 den fazla patojenik, olası patojenik ve VUS varyantlar bildirilmiştir. Ve bu varyantların %70 ini missense (yanlış anlamlı) varyantlar oluşturmaktadır [191]. En sık bildirilen homozigot genotipler, sıklık sırasına göre, (p.Thr49Met), (p.Ala126Val), (p.Tyr226Cys), (p.Cys201Arg), (p.Leu274Pro), (p.Ser203Arg) ve (p.Leu99Ile) olmuştur[192]. Aynı çalışmada ayrıca (p.Thr49Met) ve (p.Leu99Ile) varyantları daha hafif fenotiple ilişkilendirilmiştir [192].

5.3. Stargardt Hastalığı ile ilişkili varyantlar

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan 10 tanesine Stargardt tanısı konuldu (%10,6). 10 hastada toplam 16 varyant saptandı. Bunlardan 10 tanesi daha önce literatürde patojenik olarak bildirilmiş varyant iken 3 tanesi çalışmamızla literatüre kazandırılmıştır. 3 hastada ise VUS varyant saptandı. Stargardt tanısı konulan hastaların tamamında *ABCA4* geninde varyant saptanmıştır.

ABCA4 lokusundaki hastalığa neden olan varyantlar çok fazladır, şu anda bilinen 1200'den fazla hastalığa neden olan patojenik varyant vardır ve özellikle Avrupa kökenli olmayanlarda yeni kohortlar tarandıkça bu sayı hızla artmaktadır. Bu varyantlar arasında yanlış anlamlı, anlamsız varyantlar, delesyonlar, kırılma defektine yol açabilecek varyantlar, intronik yerleşimli varyantlar da vardır. Bildirilen varyantların %61'ini yanlış anlamlı varyantlar %23'ünü ise protein sonlanmasına yol açan varyantlar oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda yanlış anlamlı patojenik varyanta sahip olup şiddetli klinik bulgulara sahip hastalar bildirildiği gibi protein sonlanmasına yol açabilecek patojenik varyantlara sahip ama hafif kliniğe sahip hastalar da bildirilmiştir [95, 193, 194]. Bu nedenle varyant tipiyle bulguların görülme şiddeti arasında bir ilişki saptanamamıştır.

ABCA4 lokusu çoklu kurucu aleller açısından bilgilendiricidir; yani başlangıçta tek bir coğrafi bölgede ortaya çıkan varyantlar, coğrafi veya kültürel olarak izole edilmiş popülasyonlar için iyi bilinen bir olgudur. Özellikle Avrupa'da farklı ülkelerde yapılan çalışmalar *ABCA4* genindeki varyantlardan bazılarının bazı ülkelerde özellikle sıklıkla görüldüğünü bildirmişlerdir. Örnek olarak Hollanda'da çok sık görülen c.768G>T varyantı komşu ülke Almanya'da neredeyse hiç görülmeyen bir varyanttır [195]. Buna karşılık birleşik heterozigosite formunda (p.Leu541Pro);(p.Alal038Val) varyantı Almanya'da sık görülmektedir [196]. (p.Arg1129Leu) varyantının ise İspanya'da sık görüldüğü bildirilmiştir [197]. Bu varyantlar arasında ilginç olan ise (p.Asn965Ser) varyantı şiddetli kliniğe neden olmaktadır ve öncelikle Danimarka'da kurucu patojenik varyant olduğu bildirilmiştir [198]. Daha sonraki yapılan çalışmalarda aynı varyantın Çin'deki hastalarda da çok sık saptandığı bildirilmiştir. Yapılan haplotip analizi, varyantın iki bölgede bağımsız olarak meydana geldiğini doğrulamıştır [199]. Literatürde bildirilmiş hastalar arasında en sık hastalığa neden olan *ABCA4* genindeki (p.Gly1961Glu) varyantı, Somalililerin ~%10'unda bulunan Doğu Afrika kökenlilerde oldukça sık görülen varyanttır [200, 201]. Daha sonraki nüfus göçlerine bağlı olarak (p.Gly1961Glu) varyantı tüm dünyaya yayılmıştır, ancak görülme sıklığı Somali'ye göre daha düşüktür [202]. Avrupa'daki popülasyon sıklığı ~%0,4'tür, bu da varyantın tüm popülasyonlarda veya en azından çoğunda nedensel olduğunu göstermektedir [203]. Her ne kadar (p.Asn1868Ile) varyantını taşıyan hastalar ile benzer fenotip gösterse de homozigotlukta veya bileşik heterozigotlukta (p.Gly1961Glu) varyantını taşıyan hastalar diğer varyantı taşıyan hastalardan önemli ölçüde farklı bir fenotipe sahiptir. *ABCA4*

ilişkili retinopatisi olan hastalarda başlangıç yaşı ortalama 19,7 yıl iken (p.Gly1916Glu) veya (p.Asn1868Ile) alellerini taşıyan *ABCA4* ile ilişkili retinopati vakalarında ortalama başlangıç yaşı 22,7 olarak bildirilmiştir [95]. Ayrıca (p.Gly1961Glu) varyantına sahip hastalarda daha hafif hastalık bulguları gözlenmiştir [200, 204]. Ülkemizde olduğu gibi akraba evliliğinin sık olduğu Aşkenazi yahudilerinde ise c.4254-37_4254-15del ve (p.Pro1380Leu) varyantları sık görülen patojenik varyantlar olarak bildirilmiştir [205, 206].

ABCA4 ile ilişkili retinopati vakalarının ~%20'sinde Boğa gözü makülopatisi (BGM) evresi görülmektedir. Ve özellikle c.5882G>A, (p.Gly1961Glu) varyantına sahip hastalarda sık gözlenmiştir [204]. Hasta 26 da birleşik heterozigot formunda *ABCA4* geninde c.5882G>A (p.Gly1961Glu) ve *ABCA4* geninde heterozigot c.2288C>A (p.Ala763Asp) patojenik varyantları saptanmıştır. Hasta 69'da ise birleşik heterozigot formda c.5882G>A (p.Gly1961Glu) ve c.5172G>A (p.Trp1724*) varyantı saptanmıştır.

28 numaralı hastada *ABCA4* geninde heterozigot formda 2 farklı varyant saptandı. Yapılan segregasyon çalışmasında c.203C>T varyantının anneden; c.2966T>A varyantının ise babadan kalıtıldığı belirlendi. Bunlardan ilki *ABCA4* c.203C>T (p.Pro68Leu) varyantıydı. Bu varyant daha önce Clinvar'da patojenik ve olası patojenik varyant olarak bildirilmiş bir varyanttır. Aynı varyantın birleşik heterozigot formunda Stargardt hastalarında görüldüğü literatürdeki çalışmalarda yayınlanmıştır [207, 208]. İkinci varyant ise c.2966T>A (p.Val989Asp) varyantıydı. Bu varyant literatürde daha önce bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3) olarak değerlendirildi. Çalışmamızla literatüre kazandırılmıştır.

30 numaralı hastada *ABCA4*(NM_000350) geninde heterozigot c.3808G>T (p.Glu1270*) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce Clinvar'da patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı. Ayrıca *ABCA4*(NM_000350) geninde heterozigot c.635G>A (p.Arg212His) varyantı saptandı. Bu varyant veri tabanlarında benign polimorfizm olarak geçmektedir ancak literatürde Özgül ve arkadaşlarının Türk popülasyonunda yaptığı çalışmada ayrıca Sun ve Arkadaşlarının Kore popülasyonunda yaptığı çalışmada Stargardt hastalarında birleşik heterozigot durumda raporlanmıştır [209, 210].

5.4. Usher Sendromu ile ilişkili varyantlar

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan 8 tanesine (%8) US tanısı konuldu (Hasta 2, 7, 19, 52, 56, 63, 78, 87). 2 numaralı hastada *USH2A* geninde homozigot c.12067-2A>G varyantı saptandı. Aynı varyant 7 numaralı hastada heterozigot olarak saptandı. Bu varyant ilk olarak 2008 yılında Auslander ve arkadaşlarının İsraildeki Aşkenazi kökeninden olmayan hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada bildirilmiştir [211]. Yine aynı çalışmada korunmuş alıcı ekleme bölgesindeki A>G değişikliğinin kırılma defektine yol açabileceği bildirilmiştir [211]. Daha sonra Garcia ve arkadaşlarının 88 İspanyol kökenli US ön tanılı hasta üzerinde yaptığı çalışmada 43 hastada kliniği açıklayabilecek patojenik varyant saptanırken bunların 3 tanesinde c.12067-2A>G varyantı saptanmıştır [212].

19 numaralı hastada *USH2A*(NM:206933) geninde heterozigot c.11864G>A (p.Trp3955*) ve heterozigot c.2276G>T (p.Cys759Phe) varyantı saptandı. US2 hastaları ile ilişkili yapılan çalışmalarda *USH2A* geninde geniş patojenik varyant spektrumu bildirilmiştir [213]. Bunlar arasında c.2299delG varyantı en sık saptanan patojenik varyantır [214]. Ancak Slovenyadaki US2 popülasyonu üzerinde yapılan çalışmada en sık gözlenen varyant %84 sıklıkta c.11864G>A varyantı olarak bildirilmiştir [122, 215]. c.11864G>A varyantına yönelik Avrupa'daki diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Fransa'da %2.5, İtalya'da %6.5 sıklıkta Almanyada %23 oranında bildirilmiştir. Hastamızda saptadığımız bir diğer varyant olan c.2276G>T varyantının her ne kadar daha önce İspanyada 224 kişiyi dahil ettikleri çalışmada sağlıklı 2 kişide homozigot olarak saptandığı bildirilmiş olsa da literatürde 90'dan fazla RP hastasında ve 40 US2 hastasında bildirilmiştir [216-219]. Reurink ve arkadaşları tarafından insan (p.Cys759Phe)'yi taklit eden bir *USH2A* (p.Cys771Phe) zebra balığı modeli oluşturuldu ve fonksiyonel ve immünohistokimyasal analizler kullanılarak karakterize edildi. Yapılan zebra balığı modeli değerlendirmesi, fotoreseptör perisilyer membranında güçlü bir şekilde azalmış usherin ifade seviyelerini, fotoreseptör hücre gövdesinde artmış rodopsin lokalizasyon seviyelerini ve vahşi tip kontrollere kıyasla azalmış elektroretinogram (ERG) b-dalgası amplitüdlerini ortaya çıkarıldı [220]. 78

numaralı hastada *USH2A*(NM:206933) geninde homozigot c.12574C>G (p.Arg 4192Gly) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyanttı. Çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. Aynı pozisyondaki c.12574C>T değişimi daha önce yayınlanmış olan bir çok çalışmada patojenik varyant olarak bildirilmiştir [221-223].

56 numaralı hastada saptanan *MYO7A*(NM:000260.4) genindeki homozigot c.6539T>C (p.Leu2180Pro) varyantı daha önce Clinvar'da bildirilmemiş bir varyanttı. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP3, PM1, PM2) olarak değerlendirildi. 87 numaralı hastada ise *MYO7A*(NM_000260) geninde homozigot c.4793T>C (p.Leu1598Pro) varyantı saptandı. Bu varyant da daha önce literatürde bildirilmemiş patojenik bir varyanttı. ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PP3, PM1, PM2) olarak değerlendirildi. Her iki hastada yanlış anlamlı (missense) varyantlar saptanmış olsa da *MYO7A* geninde daha önce bildirilen varyantların çoğu truncating varyantlardı [224]. Bu varyantların etkisi ile erken stop kodon dizisi, güdük protein oluşumuna neden olmuş olabilir. Diğer bir olasılık ise çerçeve kayması tipinde olduğundan, oluşan mRNA 'anlamsız aracılı mRNA bozunması' ile yıkıma gidebilir ve sonuç olarak protein hiç oluşmayabilir. Her iki varyant da çalışmamız ile literatüre kazandırıldı.

5.5. Bietti Kristalin Korneoretinal distrofi ile ilişkili varyantlar

Dördü proband olmak üzere toplam 6 hastaya BKD tanısı konuldu. Bu 6 hastadan 4 ünde *CYP4V2* geninde c.802-8_810delinsGC varyantı, birinde c.1198C>T varyantı ve birinde de c.414-1G>T varyantı saptandı.

12 Numaralı hastada c.414-1G>T saptanan varyant daha önce literatürde bildirilmemiş olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak değerlendirildi. Çalışmamız ile literatüre kazandırıldı. Saptanan varyant Human Splicing Finder (HSF) analiz programında analiz edildiğinde alıcı bölgede yeni bir kırılma bölgesi oluşturarak kırılma defektine yol açabileceği gözlemlendi. (Şekil 62).



Şekil 62: *CYP4V2*(NM:207352) geninde homozigot c.414-1G>T varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.

CYP4V2 genindeki patojenik varyantlar BKD ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde şimdiye kadar yaklaşık 100 varyant bildirilmiştir [225]. *CYP4V2* geni 11 ekzonludur ve tüm ekzonlarda sendromla ilişkili varyant bildirilmiştir. BKD özellikle Asya ülkelerinde daha sık gözlenmektedir. Ve özellikle Hasta 14 ve hasta 18 de saptadığımız c.802–8_810delinsGC varyantı Asya popülasyonunda yaygın olduğu bilinen patojenik varyanttır [132]. BKD hastaları üzerinde yapılan çalışmalarda henüz genotip fenotip korelasyonu kurulamamıştır [226]. Ancak Lai ve Halford’un yaptığı 2 farklı çalışmada c.802–8_810delinsGC patojenik varyantına sahip hastalarda yapılan elektrofizyolojik değerlendirmelerde fenotiplerinin daha ağır olduğu gözlenmiştir [227, 228]. Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu varyantın ekzon 7 de silinme sonucu çerçeve kaymasına yol açtığı ve protein ekspresyon analizinde güdük protein oluşumuyla sonuçlandığı gözlenmiştir [135]. Halford ve arkadaşlarının 2014 yılında BKD olduğu düşünülen 17 aileden 20 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 7’si missense olmak üzere 11 farklı varyant saptandığı ve bu varyantlardan c.197T>G (p.Met66Arg) varyantının Güney Asya kökenli 8 aileden toplam 11 hastada saptandığı bildirilmiştir [228].

23 Numaralı hastada homozigot c.1198C>T (p.Arg400Cys) patojenik varyantı saptandı. Bu varyant ilk olarak 2007 yılında Lai ve arkadaşlarının çalışmasında birleşik heterozigosite saptanarak bildirilen varyanttır [227]. Aynı varyant 2018 yılında bir hastada homozigot formda saptanmıştır [229]. Bu çalışmada yapılan protein modellemesinde (p.Arg400Cys) homozigot varyantının hidrojen bağı ağını bozarak CYP4V2 proteinin 3 boyutlu yapısını ve fonksiyonunu bozabileceği bildirilmiştir [229].

5.6. Bardet Biedl Sendromu ile ilişkili varyantlar

Bardet Biedl Sendromu polidaktili, RP, obezite, renal anomaliler, öğrenme güçlüğü ve hipogonadizmle karakterize hem genetik olarak hem de klinik olarak oldukça heterojen bir hastalık grubudur. Güncel literatürde BBS ile ilişkili 28 gen saptanmıştır [2]. Literatürde daha önce yayınlanmış çalışmalarda en sık patojenik varyantlar *BBS1* ve *BBS10* geninde bildirilmiş olsa da 2023 yılında Xin-Yi ve arkadaşlarının 153 Çinli BBS hastasıyla yaptıkları çalışmada en sık *BB7* geninde patojenik varyant saptanmıştır [148, 230]. BBS sendromuyla ilgili olarak Türk popülasyonunda çok az sayıda çalışma olmasına rağmen Solmaz ve arkadaşlarının 15 Türk BBS hastalarıyla yaptığı çalışmada da literatürle uyumlu olarak en sık *BBS1* ve *BBS10* geninde patojenik varyant saptanmıştır [231]. Bu çalışmalar saptanan patojenik varyantların sıklığının toplumdan topluma değişiklik gösterebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan 4'ünde (Hasta 11, 44, 59, 72) BBS ile ilişkili genlerde (*BBS1*, *BBS4*, *BBS7*, *ARL6*) patojenik varyant tespit edildi (%4). Bunlardan ilki olan 11 numaralı hastada *BBS1*(NM:024649) geninde homozigot c.479G>A (p.Arg160Gln) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce Clinvar'da patojenik olarak bildirilmiş bir varyanttı. İlk olarak 2005 yılında Hichri ve arkadaşlarının 27 BBS hastası ile yapmış olduğu çalışmada bildirilmiştir [232]. 44 numaralı hastada *BBS4*(NM:001252678) geninde homozigot c.587A>G p.Asp196Gly varyantı saptandı. Daha önce Clinvar'da olası patojenik olarak bildirilmiş olan varyant ACMG kriterlerine göre de olası patojenik (PP3, PM2, PP5) olarak değerlendirildi. 59 numaralı hastada ise *BBS7*(NM_176824.3) geninde homozigot c.849+1G>T varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyanttı, çalışmamızla literatüre kazandırıldı. Tüm veri tabanlarında alel frekansı son derece düşük olan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik

olarak (PVS1, PM2) değerlendirildi. Saptanan varyant HSF analiz programında analiz edildiğinde verici (donör) bölgede yeni bir kırılma bölgesi oluşturarak kırılma defektine yol açabileceği gözlemlendi (Şekil 63). 72 numaralı hastada *ARL6*(NM_001278293) geninde homozigot c.276del (p.Phe92Leufs*9) varyantı saptandı. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiş bir varyanttı. Tüm veri tabanlarında alel frekansı son derece düşük olup ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak (PVS1, PM2) değerlendirildi. Bu çalışmayla literatüre kazandırılmıştır.



Şekil 63: *BBS7*(NM_176824.3) geninde homozigot c.849+1G>T varyantının HSF’de analizinin görüntüsü.

BBS de gözlenen bulgular açısından genotip fenotip korelasyonu yapmak oldukça zordur. Ancak literatürde bu konu hakkında yapılmış çalışmalar mevcuttur. BBSome şaperon benzeri protein, BBSome kompleksinin erken sentezinde rol oynar, bu nedenle *BBS6/MKKS*, *BBS10* ve *BBS12* genlerinde patojenik varyant saptanan hastaların daha şiddetli semptomlara sahip olduğu öne sürülmüştür [233]. Buna karşılık Florea ve arkadaşları ise *BBS2* geninde patojenik varyantı olanların şiddetli kliniğe sahip olduğunu bildirmiştir [234]. Yine aynı çalışmada *BBS7* tipi

hastalarda böbrek anomalilerinin oranı nispeten yüksek olduğu (>%60) ve BBS2 ve BBS10 tiplerinde nispeten daha düşük olduğu rapor edilmiştir [234]. Buna karşılık bizim *BBS7* geninde patojenik varyantı olan 59 numaralı hastamızda obezite ve öğrenme güçlüğü varken böbrek anomalisi saptanmadı. Niederlova ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BBS2 ve BBS4 tiplerine sahip hastalarda polidaktili oranı daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir [233]. Bu çalışmayla uyumlu olarak *BBS4* geninde patojenik varyant saptadığımız 44 numaralı hastada polidaktili vardı.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kalitsal retinal distrofiler açısından 141 gen içeren kalitsal retinal distrofi paneline alınarak araştırılan 94 hastanın poliklinik dosyası ve dataları retrospektif olarak incelenmiştir. Saptanan bulgular hastanın kliniği ve güncel literatür eşliğinde değerlendirilmiş ve aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

- 1) Çalışmaya dahil ettiğimiz 94 hastanın 77'sine (%81) tanı konulmuştur. Literatürdeki güncel çalışmalarda tanı oranları %70-80 arasında bildirilmiştir [4, 5]. Bu açıdan tanı oranımız güncel literatürle uyumlu saptanmıştır.
- 2) Çalışmaya dahil edilen 94 hastada 58 (%52,25) patojenik, 39 (%35,14) olası patojenik ve 14 (%12,6) adet VUS olarak sınıflandırılabilen 111 varyant saptanmıştır. Bunlardan 32 tanesi (%29) daha önce literatürde bildirilmemiş varyantlar olup çalışmamız ile literatüre kazandırılmıştır. Bu varyantların hastalık patogenezindeki rollerinin daha iyi anlaşılması için hücre kültürü, hayvan çalışmaları, protein ekspresyon seviyesinin analizi gibi fonksiyonel çalışmalar planlanmalıdır.
- 3) KRD alt gruplarına baktığımızda hastalardan 29'una RP (%30), 10'una LKA (%10,6), 10'una Stargardt (%10,6), 8'ine US (%8,5), 4'üne BBS (%4,3), 4'üne BKD (%4,3) tanısı konulmuştur. Literatürde KRD'nin en sık alt tipi RP olduğu için bu bulgumuz literatürle uyumlu olarak saptanmıştır.
- 4) Çalışmaya dahil edilen 94 hastanın 69'unda (%73,4) ebeveynler arasında akrabalık olduğu veya aynı köylü oldukları belirtilmiştir. Ve hastalardan 40'ının (%42,5) ailesinde benzer öyküye sahip bireyler olduğu saptanmıştır. Tanı konulan 77 hastanın %88'inde OR kalıtım paternine sahip hastalık tanısı konulmuştur. Literatürdeki çalışmalarda KRD

hastalarının %50-60'ında OR kalıtım gözlenmektedir. Çalışmamızdaki yüksek saptanan OR kalıtım oranı akraba evliliğinin çok yüksek oranda olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

- 5) KRD hastalarının en sık görülen tipi RP olsa da diğer tiplerde RP ye eşlik eden işitme kaybı, obezite, polidaktili gibi birçok bulgu gözlenmektedir. Bu nedenle bu hastaların poliklinikte değerlendirilirken sistem sistem değerlendirilmesi gerekmektedir.
- 6) Özellikle erken yaşta görme kaybı olan, birden fazla sistem tutulumu olan, ailede birden fazla bireyde benzer şikayetleri olan ve ebeveynleri arasında akrabalık olan hastaların genetik açıdan araştırılması önerilmektedir.
- 7) Hastalarda moleküler tanının erken yaşta konulması hem hastalığın yönetimi ve hem de uygun tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi için önemlidir. Özellikle gen replasman tedavilerinin başlamasıyla hastalarda altta yatan genetik etyolojinin tespit edilmesi daha da önem kazanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Sahel, J.A., K. Marazova, and I. Audo, *Clinical characteristics and current therapies for inherited retinal degenerations*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2014. **5**(2): p. a017111.
2. <https://sph.uth.edu/retnet/>.
3. Tatour, Y. and T. Ben-Yosef, *Syndromic Inherited Retinal Diseases: Genetic, Clinical and Diagnostic Aspects*. Diagnostics (Basel), 2020. **10**(10).
4. Villanueva-Mendoza, C., et al., *The Genetic Landscape of Inherited Retinal Diseases in a Mexican Cohort: Genes, Mutations and Phenotypes*. Genes (Basel), 2021. **12**(11).
5. Peter, V.G., et al., *The first genetic landscape of inherited retinal dystrophies in Portuguese patients identifies recurrent homozygous mutations as a frequent cause of pathogenesis*. PNAS Nexus, 2023. **2**(3): p. pgad043.
6. Nuzbrokh, Y., S.D. Ragi, and S.H. Tsang, *Gene therapy for inherited retinal diseases*. Ann Transl Med, 2021. **9**(15): p. 1278.
7. Ng, P.C. and J.J. Oliver, *Anatomy of the Eye*, in *Handbook of Emergency Ophthalmology*, B. Long and A. Koyfman, Editors. 2018, Springer International Publishing: Cham. p. 1-12.
8. *A Textbook of Clinical Ophthalmology*. 2003, Community Eye Health.
9. Cholkar, K., et al. *Eye: anatomy, physiology and barriers to drug delivery*. 2013.
10. Ferrara, M., et al., *Biomechanical properties of retina and choroid: a comprehensive review of techniques and translational relevance*. Eye (Lond), 2021. **35**(7): p. 1818-1832.
11. Regus-Leidig, H. and J.H. Brandstatter, *Structure and function of a complex sensory synapse*. Acta Physiol (Oxf), 2012. **204**(4): p. 479-86.
12. Kennedy, B. and J. Malicki, *What drives cell morphogenesis: a look inside the vertebrate photoreceptor*. Dev Dyn, 2009. **238**(9): p. 2115-38.
13. Jastrzebska, B., et al., *Role of membrane integrity on G protein-coupled receptors: Rhodopsin stability and function*. Prog Lipid Res, 2011. **50**(3): p. 267-77.
14. Berson, E.L., et al., *Natural course of retinitis pigmentosa over a three-year interval*. Am J Ophthalmol, 1985. **99**(3): p. 240-51.
15. Rivolta, C., et al., *Retinitis pigmentosa and allied diseases: numerous diseases, genes, and inheritance patterns*. Hum Mol Genet, 2002. **11**(10): p. 1219-27.
16. Verbakel, S.K., et al., *Non-syndromic retinitis pigmentosa*. Prog Retin Eye Res, 2018. **66**: p. 157-186.
17. Puech, B.e.e.h.i.l.g.v.r.e., J.-J.e.e.h.i.l.g.v.r.e. De Laey, and G.E.e.e.h.i.l.g.v.r.e. Holder, *Inherited Chorioretinal Dystrophies A Textbook and Atlas*. 1st 2014. ed. 2014.
18. Zhang, X., et al., *Therapeutic Potential of Co-enzyme Q10 in Retinal Diseases*. Curr Med Chem, 2017. **24**(39): p. 4329-4339.

19. Hussain, R.M., et al., *Pharmacotherapy of retinal disease with visual cycle modulators*. Expert Opin Pharmacother, 2018. **19**(5): p. 471-481.
20. Strong, S., G. Liew, and M. Michaelides, *Retinitis pigmentosa-associated cystoid macular oedema: pathogenesis and avenues of intervention*. Br J Ophthalmol, 2017. **101**(1): p. 31-37.
21. Athanasiou, D., et al., *The molecular and cellular basis of rhodopsin retinitis pigmentosa reveals potential strategies for therapy*. Prog Retin Eye Res, 2018. **62**: p. 1-23.
22. Wald, G., *The molecular basis of visual excitation*. Nature, 1968. **219**(5156): p. 800-7.
23. Zhang, X. and R.H. Cote, *cGMP signaling in vertebrate retinal photoreceptor cells*. Front Biosci, 2005. **10**: p. 1191-204.
24. Gerhardt, M.J., et al., *Biology, Pathobiology and Gene Therapy of CNG Channel-Related Retinopathies*. Biomedicines, 2023. **11**(2).
25. Gurevich, V.V., E.V. Gurevich, and W.M. Cleghorn, *Arrestins as multi-functional signaling adaptors*. Handb Exp Pharmacol, 2008(186): p. 15-37.
26. Krispel, C.M., et al., *RGS expression rate-limits recovery of rod photoresponses*. Neuron, 2006. **51**(4): p. 409-16.
27. Pugh, E.N., Jr., *RGS expression level precisely regulates the duration of rod photoresponses*. Neuron, 2006. **51**(4): p. 391-3.
28. Haeseleer, F., et al., *Molecular characterization of a third member of the guanylyl cyclase-activating protein subfamily*. J Biol Chem, 1999. **274**(10): p. 6526-35.
29. Zhen, F., et al., *Rhodopsin-associated retinal dystrophy: Disease mechanisms and therapeutic strategies*. Front Neurosci, 2023. **17**: p. 1132179.
30. Daiger, S.P., S.J. Bowne, and L.S. Sullivan, *Genes and Mutations Causing Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2014. **5**(10).
31. Singhal, A., et al., *Insights into congenital stationary night blindness based on the structure of G90D rhodopsin*. EMBO Rep, 2013. **14**(6): p. 520-6.
32. Kartasmita, A., et al., *A novel nonsense mutation in rhodopsin gene in two Indonesian families with autosomal recessive retinitis pigmentosa*. Ophthalmic Genet, 2011. **32**(1): p. 57-63.
33. Khramtsov, N.V., et al., *The human rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase beta-subunit. Structural studies of its cDNA and gene*. FEBS Lett, 1993. **327**(3): p. 275-8.
34. Kim, M.S., et al., *Genetic Mutation Profiles in Korean Patients with Inherited Retinal Diseases*. J Korean Med Sci, 2019. **34**(21): p. e161.
35. Moiseyev, G., et al., *RPE65 is the isomerohydrolase in the retinoid visual cycle*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(35): p. 12413-8.
36. Tang, P.H., et al., *New insights into retinoid metabolism and cycling within the retina*. Prog Retin Eye Res, 2013. **32**: p. 48-63.
37. Sahu, B. and A. Maeda, *Retinol Dehydrogenases Regulate Vitamin A Metabolism for Visual Function*. Nutrients, 2016. **8**(11).

38. Kaylor, J.J., et al., *Identification of DES1 as a vitamin A isomerase in Muller glial cells of the retina*. Nat Chem Biol, 2013. **9**(1): p. 30-6.
39. Kaylor, J.J., et al., *Identification of the 11-cis-specific retinyl-ester synthase in retinal Muller cells as multifunctional O-acyltransferase (MFAT)*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(20): p. 7302-7.
40. Saari, J.C., et al., *Release of 11-cis-retinal from cellular retinaldehyde-binding protein by acidic lipids*. Mol Vis, 2009. **15**: p. 844-54.
41. Satir, P. and S.T. Christensen, *Structure and function of mammalian cilia*. Histochem Cell Biol, 2008. **129**(6): p. 687-93.
42. Berbari, N.F., et al., *The primary cilium as a complex signaling center*. Curr Biol, 2009. **19**(13): p. R526-35.
43. Singla, V. and J.F. Reiter, *The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle*. Science, 2006. **313**(5787): p. 629-33.
44. Reiter, J.F. and M.R. Leroux, *Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017. **18**(9): p. 533-547.
45. Roepman, R. and U. Wolfrum, *Protein networks and complexes in photoreceptor cilia*. Subcell Biochem, 2007. **43**: p. 209-35.
46. Ye, F., et al., *Single molecule imaging reveals a major role for diffusion in the exploration of ciliary space by signaling receptors*. Elife, 2013. **2**: p. e00654.
47. Kubo, T., et al., *Together, the IFT81 and IFT74 N-termini form the main module for intraflagellar transport of tubulin*. J Cell Sci, 2016. **129**(10): p. 2106-19.
48. Wren, K.N., et al., *A differential cargo-loading model of ciliary length regulation by IFT*. Curr Biol, 2013. **23**(24): p. 2463-71.
49. Strissel, K.J., et al., *Arrestin translocation is induced at a critical threshold of visual signaling and is superstoichiometric to bleached rhodopsin*. J Neurosci, 2006. **26**(4): p. 1146-53.
50. Schwarz, N., et al., *Arl3 and RP2 regulate the trafficking of ciliary tip kinesins*. Hum Mol Genet, 2017. **26**(17): p. 3451.
51. Bhogaraju, S., B.D. Engel, and E. Lorentzen, *Intraflagellar transport complex structure and cargo interactions*. Cilia, 2013. **2**(1): p. 10.
52. Mourao, A., S.T. Christensen, and E. Lorentzen, *The intraflagellar transport machinery in ciliary signaling*. Curr Opin Struct Biol, 2016. **41**: p. 98-108.
53. Goyal, S., et al., *Confirmation of TTC8 as a disease gene for nonsyndromic autosomal recessive retinitis pigmentosa (RP51)*. Clin Genet, 2016. **89**(4): p. 454-460.
54. Murphy, D., et al., *Alternative Splicing Shapes the Phenotype of a Mutation in BBS8 To Cause Nonsyndromic Retinitis Pigmentosa*. Mol Cell Biol, 2015. **35**(10): p. 1860-70.
55. Shevach, E., et al., *Association between missense mutations in the BBS2 gene and nonsyndromic retinitis pigmentosa*. JAMA Ophthalmol, 2015. **133**(3): p. 312-8.
56. Goncalves, J. and L. Pelletier, *The Ciliary Transition Zone: Finding the Pieces and Assembling the Gate*. Mol Cells, 2017. **40**(4): p. 243-253.

57. Takao, D. and K.J. Verhey, *Gated entry into the ciliary compartment*. Cell Mol Life Sci, 2016. **73**(1): p. 119-27.
58. Garcia-Gonzalo, F.R., et al., *A transition zone complex regulates mammalian ciliogenesis and ciliary membrane composition*. Nat Genet, 2011. **43**(8): p. 776-84.
59. Ebllimit, A., et al., *Spata7 is a retinal ciliopathy gene critical for correct RPGRIP1 localization and protein trafficking in the retina*. Hum Mol Genet, 2015. **24**(6): p. 1584-601.
60. Goldberg, A.F., O.L. Moritz, and D.S. Williams, *Molecular basis for photoreceptor outer segment architecture*. Prog Retin Eye Res, 2016. **55**: p. 52-81.
61. Ding, J.D., R.Y. Salinas, and V.Y. Arshavsky, *Discs of mammalian rod photoreceptors form through the membrane evagination mechanism*. J Cell Biol, 2015. **211**(3): p. 495-502.
62. Saishin, Y., et al., *Retinal fascin: functional nature, subcellular distribution, and chromosomal localization*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000. **41**(8): p. 2087-95.
63. Salinas, R.Y., et al., *Photoreceptor discs form through peripherin-dependent suppression of ciliary ectosome release*. J Cell Biol, 2017. **216**(5): p. 1489-1499.
64. Nager, A.R., et al., *An Actin Network Dispatches Ciliary GPCRs into Extracellular Vesicles to Modulate Signaling*. Cell, 2017. **168**(1-2): p. 252-263 e14.
65. Loewen, C.J. and R.S. Molday, *Disulfide-mediated oligomerization of Peripherin/Rds and Rom-1 in photoreceptor disk membranes. Implications for photoreceptor outer segment morphogenesis and degeneration*. J Biol Chem, 2000. **275**(8): p. 5370-8.
66. Yang, Z., et al., *Mutant prominin 1 found in patients with macular degeneration disrupts photoreceptor disk morphogenesis in mice*. J Clin Invest, 2008. **118**(8): p. 2908-16.
67. Liu, Q., J. Zuo, and E.A. Pierce, *The retinitis pigmentosa 1 protein is a photoreceptor microtubule-associated protein*. J Neurosci, 2004. **24**(29): p. 6427-36.
68. Yamashita, T., et al., *Essential and synergistic roles of RP1 and RP1L1 in rod photoreceptor axoneme and retinitis pigmentosa*. J Neurosci, 2009. **29**(31): p. 9748-60.
69. Hollyfield, J.G., *Hyaluronan and the functional organization of the interphotoreceptor matrix*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999. **40**(12): p. 2767-9.
70. Ishikawa, M., Y. Sawada, and T. Yoshitomi, *Structure and function of the interphotoreceptor matrix surrounding retinal photoreceptor cells*. Exp Eye Res, 2015. **133**: p. 3-18.
71. Rhodes, J.M. and M. Simons, *The extracellular matrix and blood vessel formation: not just a scaffold*. J Cell Mol Med, 2007. **11**(2): p. 176-205.
72. Kanan, Y., et al., *Protein tyrosine-O-sulfation in the retina*. Exp Eye Res, 2009. **89**(4): p. 559-67.
73. Inatani, M. and H. Tanihara, *Proteoglycans in retina*. Prog Retin Eye Res, 2002. **21**(5): p. 429-47.

74. van Huet, R.A., et al., *IMPG2-associated retinitis pigmentosa displays relatively early macular involvement*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(6): p. 3939-53.
75. Acharya, S., et al., *SPACRCAN, a novel human interphotoreceptor matrix hyaluronan-binding proteoglycan synthesized by photoreceptors and pinealocytes*. J Biol Chem, 2000. **275**(10): p. 6945-55.
76. Foletta, V.C., et al., *SPACRCAN in the developing retina and pineal gland of the rat: spatial and temporal pattern of gene expression and protein synthesis*. J Comp Neurol, 2001. **435**(3): p. 354-63.
77. Husain, N., et al., *The agrin/perlecan-related protein eyes shut is essential for epithelial lumen formation in the Drosophila retina*. Dev Cell, 2006. **11**(4): p. 483-93.
78. Zehhof, A.C., et al., *Transforming the architecture of compound eyes*. Nature, 2006. **443**(7112): p. 696-9.
79. Alfano, G., et al., *EYS Is a Protein Associated with the Ciliary Axoneme in Rods and Cones*. PLoS One, 2016. **11**(11): p. e0166397.
80. Lu, Z., et al., *Ablation of EYS in zebrafish causes mislocalisation of outer segment proteins, F-actin disruption and cone-rod dystrophy*. Sci Rep, 2017. **7**: p. 46098.
81. Kondkar, A.A. and K.K. Abu-Amero, *Leber congenital amaurosis: Current genetic basis, scope for genetic testing and personalized medicine*. Exp Eye Res, 2019. **189**: p. 107834.
82. den Hollander, A.I., et al., *Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms*. Prog Retin Eye Res, 2008. **27**(4): p. 391-419.
83. Kumaran, N., et al., *Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions*. Br J Ophthalmol, 2017. **101**(9): p. 1147-1154.
84. Huang, C.H., et al., *Leber's Congenital Amaurosis: Current Concepts of Genotype-Phenotype Correlations*. Genes (Basel), 2021. **12**(8).
85. Sweeney, M.O., et al., *Low prevalence of lecithin retinol acyltransferase mutations in patients with Leber congenital amaurosis and autosomal recessive retinitis pigmentosa*. Mol Vis, 2007. **13**: p. 588-93.
86. Wang, H., et al., *Comprehensive Molecular Diagnosis of a Large Chinese Leber Congenital Amaurosis Cohort*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015. **56**(6): p. 3642-55.
87. Perrault, I., et al., *Retinal dehydrogenase 12 (RDH12) mutations in leber congenital amaurosis*. Am J Hum Genet, 2004. **75**(4): p. 639-46.
88. Alves, C.H., L.P. Pellissier, and J. Wijnholds, *The CRB1 and adherens junction complex proteins in retinal development and maintenance*. Prog Retin Eye Res, 2014. **40**: p. 35-52.
89. Stargardt, K., *Über familiäre, progressive Degeneration in der Maculagegend des Auges*. Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie, 1909. **71**(3): p. 534-550.
90. Michaelides, M., D.M. Hunt, and A.T. Moore, *The genetics of inherited macular dystrophies*. J Med Genet, 2003. **40**(9): p. 641-50.

91. Haji Abdollahi, S. and T. Hirose, *Stargardt-Fundus flavimaculatus: recent advancements and treatment*. Semin Ophthalmol, 2013. **28**(5-6): p. 372-6.
92. Fujinami, K., et al., *A longitudinal study of Stargardt disease: quantitative assessment of fundus autofluorescence, progression, and genotype correlations*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013. **54**(13): p. 8181-90.
93. Rotenstreich, Y., G.A. Fishman, and R.J. Anderson, *Visual acuity loss and clinical observations in a large series of patients with Stargardt disease*. Ophthalmology, 2003. **110**(6): p. 1151-8.
94. Runhart, E.H., et al., *The Common ABCA4 Variant p.Asn1868Ile Shows Nonpenetrance and Variable Expression of Stargardt Disease When Present in trans With Severe Variants*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018. **59**(8): p. 3220-3231.
95. Zernant, J., et al., *Frequent hypomorphic alleles account for a significant fraction of ABCA4 disease and distinguish it from age-related macular degeneration*. J Med Genet, 2017. **54**(6): p. 404-412.
96. Bax, N.M., et al., *Foveal Sparing in Central Retinal Dystrophies*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019. **60**(10): p. 3456-3467.
97. van Huet, R.A., et al., *Foveal sparing in Stargardt disease*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(11): p. 7467-78.
98. Fujinami, K., et al., *Clinical and molecular characteristics of childhood-onset Stargardt disease*. Ophthalmology, 2015. **122**(2): p. 326-34.
99. Tanaka, K., et al., *The Rapid-Onset Chorioretinopathy Phenotype of ABCA4 Disease*. Ophthalmology, 2018. **125**(1): p. 89-99.
100. Salvatore, S., et al., *Association of dark-adapted visual function with retinal structural changes in patients with Stargardt disease*. Retina, 2014. **34**(5): p. 989-95.
101. Burke, T.R., et al., *Familial discordance in Stargardt disease*. Mol Vis, 2012. **18**: p. 227-33.
102. Singh, R., et al., *Longitudinal follow-up of siblings with a discordant Stargardt disease phenotype*. Acta Ophthalmol, 2014. **92**(4): p. e331-2.
103. Tanna, P., et al., *Stargardt disease: clinical features, molecular genetics, animal models and therapeutic options*. Br J Ophthalmol, 2017. **101**(1): p. 25-30.
104. Rahman, N., et al., *Macular dystrophies: clinical and imaging features, molecular genetics and therapeutic options*. Br J Ophthalmol, 2020. **104**(4): p. 451-460.
105. Allikmets, R., et al., *A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy*. Nat Genet, 1997. **15**(3): p. 236-46.
106. Allikmets, R., *Further evidence for an association of ABCR alleles with age-related macular degeneration. The International ABCR Screening Consortium*. Am J Hum Genet, 2000. **67**(2): p. 487-91.
107. Greenstein, V.C., et al., *A Comparison of En Face Optical Coherence Tomography and Fundus Autofluorescence in Stargardt Disease*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017. **58**(12): p. 5227-5236.

108. Lenis, T.L., et al., *Expression of ABCA4 in the retinal pigment epithelium and its implications for Stargardt macular degeneration*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018. **115**(47): p. E11120-E11127.
109. Cideciyan, A.V., et al., *ABCA4-associated retinal degenerations spare structure and function of the human parapapillary retina*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005. **46**(12): p. 4739-46.
110. Ma, C.J., et al., *Late-onset pattern macular dystrophy mimicking ABCA4 and PRPH2 disease is caused by a homozygous frameshift mutation in ROM1*. Cold Spring Harb Mol Case Stud, 2019. **5**(3).
111. Duncker, T., et al., *Quantitative fundus autofluorescence distinguishes ABCA4-associated and non-ABCA4-associated bull's-eye maculopathy*. Ophthalmology, 2015. **122**(2): p. 345-55.
112. <https://webeye.ophth.uiowa.edu/eyeforum/atlas/pages/Stargardt-disease-13.htm>.
113. Sparrow, J.R. and M. Boulton, *RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology*. Exp Eye Res, 2005. **80**(5): p. 595-606.
114. Sparrow, J.R., et al., *The bisretinoids of retinal pigment epithelium*. Prog Retin Eye Res, 2012. **31**(2): p. 121-35.
115. Millan, J.M., et al., *An update on the genetics of usher syndrome*. J Ophthalmol, 2011. **2011**: p. 417217.
116. Fuster-Garcia, C., et al., *Usher Syndrome: Genetics of a Human Ciliopathy*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(13).
117. Geleoc, G.G.S. and A. El-Amraoui, *Disease mechanisms and gene therapy for Usher syndrome*. Hear Res, 2020. **394**: p. 107932.
118. Dinculescu, A., B.A. Link, and D.A. Saperstein, *Retinal Gene Therapy for Usher Syndrome: Current Developments, Challenges, and Perspectives*. Int Ophthalmol Clin, 2021. **61**(4): p. 109-124.
119. Kelley, P.M., et al., *The genomic structure of the gene defective in Usher syndrome type Ib (MYO7A)*. Genomics, 1997. **40**(1): p. 73-9.
120. Ahmed, Z.M., et al., *Inframe deletion of human ESPN is associated with deafness, vestibulopathy and vision impairment*. J Med Genet, 2018. **55**(7): p. 479-488.
121. Sun, T., et al., *Comprehensive Molecular Screening in Chinese Usher Syndrome Patients*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018. **59**(3): p. 1229-1237.
122. Bonnet, C., et al., *An innovative strategy for the molecular diagnosis of Usher syndrome identifies causal biallelic mutations in 93% of European patients*. Eur J Hum Genet, 2016. **24**(12): p. 1730-1738.
123. Liu, X., et al., *Usherin is required for maintenance of retinal photoreceptors and normal development of cochlear hair cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(11): p. 4413-8.
124. Ng, T.K., et al., *Whole exome sequencing identifies novel USH2A mutations and confirms Usher syndrome 2 diagnosis in Chinese retinitis pigmentosa patients*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 5628.

125. Moller, C.G., et al., *Usher syndrome: an otoneurologic study*. Laryngoscope, 1989. **99**(1): p. 73-9.
126. Tsang, S.H. and T. Sharma, *Genetic Testing for Inherited Retinal Dystrophy: Basic Understanding*. Adv Exp Med Biol, 2018. **1085**: p. 261-268.
127. Khan, M.I., et al., *CLRN1 mutations cause nonsyndromic retinitis pigmentosa*. Ophthalmology, 2011. **118**(7): p. 1444-8.
128. Lenassi, E., et al., *A detailed clinical and molecular survey of subjects with nonsyndromic USH2A retinopathy reveals an allelic hierarchy of disease-causing variants*. Eur J Hum Genet, 2015. **23**(10): p. 1318-27.
129. Welch, R.B., *Bietti's tapetoretinal degeneration with marginal corneal dystrophy crystalline retinopathy*. Trans Am Ophthalmol Soc, 1977. **75**: p. 164-79.
130. Osman Saatci, A. and H. Can Doruk, *An Overview of Rare and Unusual Clinical Features of Bietti's Crystalline Dystrophy*. Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol, 2014. **3**(2): p. 51-6.
131. Furusato, E., J.D. Cameron, and C.C. Chan, *Evolution of Cellular Inclusions in Bietti's Crystalline Dystrophy*. Ophthalmol Eye Dis, 2010. **2010**(2): p. 9-15.
132. Ng, D.S., et al., *Genetics of Bietti Crystalline Dystrophy*. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2016. **5**(4): p. 245-52.
133. Hanany, M., et al., *An In-Depth Single-Gene Worldwide Carrier Frequency and Genetic Prevalence Analysis of CYP4V2 as the Cause of Bietti Crystalline Dystrophy*. Transl Vis Sci Technol, 2023. **12**(2): p. 27.
134. Jiao, X., et al., *Genetic linkage of Bietti crystallin corneoretinal dystrophy to chromosome 4q35*. Am J Hum Genet, 2000. **67**(5): p. 1309-13.
135. Li, A., et al., *Bietti crystalline corneoretinal dystrophy is caused by mutations in the novel gene CYP4V2*. Am J Hum Genet, 2004. **74**(5): p. 817-26.
136. Nakano, M., E.J. Kelly, and A.E. Rettie, *Expression and characterization of CYP4V2 as a fatty acid omega-hydroxylase*. Drug Metab Dispos, 2009. **37**(11): p. 2119-22.
137. Lee, J., et al., *The metabolism of fatty acids in human Bietti crystalline dystrophy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001. **42**(8): p. 1707-14.
138. Wilson, D.J., et al., *Bietti's crystalline dystrophy. A clinicopathologic correlative study*. Arch Ophthalmol, 1989. **107**(2): p. 213-21.
139. Nakano, M., et al., *CYP4V2 in Bietti's crystalline dystrophy: ocular localization, metabolism of omega-3-polyunsaturated fatty acids, and functional deficit of the p.H331P variant*. Mol Pharmacol, 2012. **82**(4): p. 679-86.
140. Kaiser-Kupfer, M.I., et al., *Clinical biochemical and pathologic correlations in Bietti's crystalline dystrophy*. Am J Ophthalmol, 1994. **118**(5): p. 569-82.
141. Mansour, A.M., S.H. Uwaydat, and C.C. Chan, *Long-term follow-up in Bietti crystalline dystrophy*. Eur J Ophthalmol, 2007. **17**(4): p. 680-2.
142. Melluso, A., et al., *Bardet-Biedl Syndrome: Current Perspectives and Clinical Outlook*. Ther Clin Risk Manag, 2023. **19**: p. 115-132.
143. Larder, R., C.T. Lim, and A.P. Coll, *Genetic aspects of human obesity*. Handb Clin Neurol, 2014. **124**: p. 93-106.

144. Moore, S.J., et al., *Clinical and genetic epidemiology of Bardet-Biedl syndrome in Newfoundland: a 22-year prospective, population-based, cohort study*. Am J Med Genet A, 2005. **132A**(4): p. 352-60.
145. Tsang, S.H., A.R.P. Aycinena, and T. Sharma, *Ciliopathy: Bardet-Biedl Syndrome*. Adv Exp Med Biol, 2018. **1085**: p. 171-174.
146. Farag, T.I. and A.S. Teebi, *Bardet-Biedl and Laurence-Moon syndromes in a mixed Arab population*. Clin Genet, 1988. **33**(2): p. 78-82.
147. Gouronc, A., et al., *High prevalence of Bardet-Biedl syndrome in La Reunion Island is due to a founder variant in ARL6/BBS3*. Clin Genet, 2020. **98**(2): p. 166-171.
148. Gnanasekaran, H., et al., *Mutation profile of Bardet-Biedl syndrome patients from India: Implicative role of multiallelic rare variants and oligogenic inheritance pattern*. Clin Genet, 2023. **104**(4): p. 443-460.
149. Mujahid, S., et al., *The Endocrine and Metabolic Characteristics of a Large Bardet-Biedl Syndrome Clinic Population*. J Clin Endocrinol Metab, 2018. **103**(5): p. 1834-1841.
150. Forsythe, E., et al., *Managing Bardet-Biedl Syndrome-Now and in the Future*. Front Pediatr, 2018. **6**: p. 23.
151. Liu, L., et al., *Comparison of next-generation sequencing systems*. J Biomed Biotechnol, 2012. **2012**: p. 251364.
152. Buermans, H.P. and J.T. den Dunnen, *Next generation sequencing technology: Advances and applications*. Biochim Biophys Acta, 2014. **1842**(10): p. 1932-1941.
153. Lek, M., et al., *Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans*. Nature, 2016. **536**(7616): p. 285-91.
154. Schwarz, J.M., et al., *MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age*. Nat Methods, 2014. **11**(4): p. 361-2.
155. Desmet, F.O., et al., *Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals*. Nucleic Acids Res, 2009. **37**(9): p. e67.
156. Richards, 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. **17**(5): p. 405-24.
157. Kopanos, C., et al., *VarSome: the human genomic variant search engine*. Bioinformatics, 2019. **35**(11): p. 1978-1980.
158. Erdem, D., *Retinitis pigmentosa hastalarının yeni nesil dizileme analizi ile göz ve klinik bulgularının değerlendirilmesi*, in *Bursa Uludağ Üniversitesi/Tıp Fakültesi/Göz Hastalıkları Anabilim Dalı*. 2023, Bursa Uludağ Üniversitesi. p. 103.
159. Fuchs, S., et al., *Three novel rhodopsin mutations (C110F, L131P, A164V) in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa*. Hum Mol Genet, 1994. **3**(7): p. 1203.
160. Behnen, P., et al., *A Small Chaperone Improves Folding and Routing of Rhodopsin Mutants Linked to Inherited Blindness*. iScience, 2018. **4**: p. 1-19.

161. Kim, C., et al., *Microarray-based mutation detection and phenotypic characterization in Korean patients with retinitis pigmentosa*. Mol Vis, 2012. **18**: p. 2398-410.
162. Beryozkin, A., et al., *Genetic Analysis of the Rhodopsin Gene Identifies a Mosaic Dominant Retinitis Pigmentosa Mutation in a Healthy Individual*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016. **57**(3): p. 940-7.
163. Abdulridha-Aboud, W., et al., *Characterization of macular structure and function in two Swedish families with genetically identified autosomal dominant retinitis pigmentosa*. Mol Vis, 2016. **22**: p. 362-73.
164. Ou, W.B., et al., *The roles of transmembrane domain helix-III during rhodopsin photoactivation*. PLoS One, 2011. **6**(2): p. e17398.
165. Souied, E., et al., *Retinitis punctata albescens associated with the Arg135Trp mutation in the rhodopsin gene*. Am J Ophthalmol, 1996. **121**(1): p. 19-25.
166. Wu, Y., et al., *Heterozygous RHO p.R135W missense mutation in a large Han-Chinese family with retinitis pigmentosa and different refractive errors*. Biosci Rep, 2019. **39**(7).
167. Shi, W., et al., *Rhodopsin arginine-135 mutants are phosphorylated by rhodopsin kinase and bind arrestin in the absence of 11-cis-retinal*. Biochemistry, 1998. **37**(14): p. 4869-74.
168. Iannaccone, A., et al., *Retinitis pigmentosa associated with rhodopsin mutations: Correlation between phenotypic variability and molecular effects*. Vision Res, 2006. **46**(27): p. 4556-67.
169. Gragg, M. and P.S. Park, *Misfolded rhodopsin mutants display variable aggregation properties*. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018. **1864**(9 Pt B): p. 2938-2948.
170. Woods, K.N. and J. Pfeffer, *Conformational perturbation, allosteric modulation of cellular signaling pathways, and disease in P23H rhodopsin*. Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 2657.
171. Comander, J., et al., *The Genetic Basis of Pericentral Retinitis Pigmentosa-A Form of Mild Retinitis Pigmentosa*. Genes (Basel), 2017. **8**(10).
172. Saqib, M.A., et al., *Homozygosity mapping reveals novel and known mutations in Pakistani families with inherited retinal dystrophies*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 9965.
173. Reeves, M.J., et al., *Genotype-phenotype associations in a large PRPH2-related retinopathy cohort*. Hum Mutat, 2020. **41**(9): p. 1528-1539.
174. Boon, C.J., et al., *Mutations in the peripherin/RDS gene are an important cause of multifocal pattern dystrophy simulating STGD1/fundus flavimaculatus*. Br J Ophthalmol, 2007. **91**(11): p. 1504-11.
175. Lee, I.J., C. Abbey, and M. Leys, *Clinical Characterization of Autosomal Dominant and Autosomal Recessive PROM1 Mutation With a Report of Novel Mutation*. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina, 2022. **53**(8): p. 422-428.
176. Mayerle, M., et al., *Structural toggle in the RNaseH domain of Prp8 helps balance splicing fidelity and catalytic efficiency*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017. **114**(18): p. 4739-4744.

177. Xu, G., et al., *Autosomal dominant retinitis pigmentosa-associated gene PRPF8 is essential for hypoxia-induced mitophagy through regulating ULK1 mRNA splicing*. *Autophagy*, 2018. **14**(10): p. 1818-1830.
178. Jespersgaard, C., et al., *Molecular genetic analysis using targeted NGS analysis of 677 individuals with retinal dystrophy*. *Sci Rep*, 2019. **9**(1): p. 1219.
179. Audo, I., et al., *RP1 and autosomal dominant rod-cone dystrophy: novel mutations, a review of published variants, and genotype-phenotype correlation*. *Hum Mutat*, 2012. **33**(1): p. 73-80.
180. Van Cauwenbergh, C., et al., *Mutations in Splicing Factor Genes Are a Major Cause of Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa in Belgian Families*. *PLoS One*, 2017. **12**(1): p. e0170038.
181. Silva, R.S., et al., *Retinitis Pigmentosa Due to Rp1 Biallelic Variants*. *Sci Rep*, 2020. **10**(1): p. 1603.
182. Verbakel, S.K., et al., *Macular Dystrophy and Cone-Rod Dystrophy Caused by Mutations in the RP1 Gene: Extending the RP1 Disease Spectrum*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019. **60**(4): p. 1192-1203.
183. Liu, Q., et al., *Expression of wild-type Rp1 protein in Rp1 knock-in mice rescues the retinal degeneration phenotype*. *PLoS One*, 2012. **7**(8): p. e43251.
184. Littink, K.W., et al., *Mutations in the EYS gene account for approximately 5% of autosomal recessive retinitis pigmentosa and cause a fairly homogeneous phenotype*. *Ophthalmology*, 2010. **117**(10): p. 2026-33, 2033 e1-7.
185. Tanos, B.E., et al., *Centriole distal appendages promote membrane docking, leading to cilia initiation*. *Genes Dev*, 2013. **27**(2): p. 163-8.
186. Adly, N., et al., *Ciliary genes TBC1D32/C6orf170 and SCLT1 are mutated in patients with OFD type IX*. *Hum Mutat*, 2014. **35**(1): p. 36-40.
187. de Castro-Miro, M., et al., *Novel Candidate Genes and a Wide Spectrum of Structural and Point Mutations Responsible for Inherited Retinal Dystrophies Revealed by Exome Sequencing*. *PLoS One*, 2016. **11**(12): p. e0168966.
188. Chung, D.C. and E.I. Traboulsi, *Leber congenital amaurosis: clinical correlations with genotypes, gene therapy trials update, and future directions*. *J AAPOS*, 2009. **13**(6): p. 587-92.
189. Astuti, G.D., et al., *Comprehensive genotyping reveals RPE65 as the most frequently mutated gene in Leber congenital amaurosis in Denmark*. *Eur J Hum Genet*, 2016. **24**(7): p. 1071-9.
190. Kuniyoshi, K., et al., *Novel nonsense and splice site mutations in CRB1 gene in two Japanese patients with early-onset retinal dystrophy*. *Doc Ophthalmol*, 2015. **130**(1): p. 49-55.
191. Daich Varela, M. and M. Michaelides, *RDH12 retinopathy: clinical features, biology, genetics and future directions*. *Ophthalmic Genet*, 2022. **43**(3): p. 1-6.
192. Fahim, A.T. and D.A. Thompson, *Natural History and Genotype-Phenotype Correlations in RDH12-Associated Retinal Degeneration*. *Adv Exp Med Biol*, 2019. **1185**: p. 209-213.
193. Molday, L.L., et al., *Localization and functional characterization of the p.Asn965Ser (N965S) ABCA4 variant in mice reveal pathogenic mechanisms*

- underlying Stargardt macular degeneration. Hum Mol Genet, 2018. 27(2): p. 295-306.*
194. Zhang, N., et al., *Protein misfolding and the pathogenesis of ABCA4-associated retinal degenerations. Hum Mol Genet, 2015. 24(11): p. 3220-37.*
 195. Cremers, F.P., et al., *The expanding roles of ABCA4 and CRB1 in inherited blindness. Novartis Found Symp, 2004. 255: p. 68-79; discussion 79-84, 177-8.*
 196. Rivera, A., et al., *A comprehensive survey of sequence variation in the ABCA4 (ABCR) gene in Stargardt disease and age-related macular degeneration. Am J Hum Genet, 2000. 67(4): p. 800-13.*
 197. Valverde, D., et al., *Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 gene in Spanish patients with Stargardt disease: evidence of a prevalent mutated allele. Mol Vis, 2006. 12: p. 902-8.*
 198. Rosenberg, T., et al., *N965S is a common ABCA4 variant in Stargardt-related retinopathies in the Danish population. Mol Vis, 2007. 13: p. 1962-9.*
 199. Jiang, F., et al., *Screening of ABCA4 Gene in a Chinese Cohort With Stargardt Disease or Cone-Rod Dystrophy With a Report on 85 Novel Mutations. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016. 57(1): p. 145-52.*
 200. Burke, T.R., et al., *Abnormality in the external limiting membrane in early Stargardt disease. Ophthalmic Genet, 2013. 34(1-2): p. 75-7.*
 201. Guymer, R.H., et al., *Variation of codons 1961 and 2177 of the Stargardt disease gene is not associated with age-related macular degeneration. Arch Ophthalmol, 2001. 119(5): p. 745-51.*
 202. Burke, T.R., et al., *Quantitative fundus autofluorescence in recessive Stargardt disease. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. 55(5): p. 2841-52.*
 203. Cremers, F.P.M., et al., *Clinical spectrum, genetic complexity and therapeutic approaches for retinal disease caused by ABCA4 mutations. Prog Retin Eye Res, 2020. 79: p. 100861.*
 204. Cella, W., et al., *G1961E mutant allele in the Stargardt disease gene ABCA4 causes bull's eye maculopathy. Exp Eye Res, 2009. 89(1): p. 16-24.*
 205. Beit-Ya'acov, A., et al., *Homozygosity for a novel ABCA4 founder splicing mutation is associated with progressive and severe Stargardt-like disease. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007. 48(9): p. 4308-14.*
 206. Sharon, D., et al., *A nationwide genetic analysis of inherited retinal diseases in Israel as assessed by the Israeli inherited retinal disease consortium (IIRDC). Hum Mutat, 2020. 41(1): p. 140-149.*
 207. Liu, X., et al., *Clinical and genetic characteristics of Stargardt disease in a large Western China cohort: Report 1. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2020. 184(3): p. 694-707.*
 208. Zhu, Q., et al., *Identification of Four Novel Variants and Determination of Genotype-Phenotype Correlations for ABCA4 Variants Associated With Inherited Retinal Degenerations. Front Cell Dev Biol, 2021. 9: p. 634843.*
 209. Ozgul, R.K., et al., *Molecular analysis of the ABCA4 gene in Turkish patients with Stargardt disease and retinitis pigmentosa. Hum Mutat, 2004. 23(5): p. 523.*

210. Sung, Y., et al., *Clinical and Genetic Characteristics Analysis of Korean Patients with Stargardt Disease Using Targeted Exome Sequencing*. Ophthalmologica, 2019. **241**(1): p. 38-48.
211. Auslender, N., et al., *Four USH2A founder mutations underlie the majority of Usher syndrome type 2 cases among non-Ashkenazi Jews*. Genet Test, 2008. **12**(2): p. 289-94.
212. Garcia-Garcia, G., et al., *Mutational screening of the USH2A gene in Spanish USH patients reveals 23 novel pathogenic mutations*. Orphanet J Rare Dis, 2011. **6**: p. 65.
213. Baux, D., et al., *Enrichment of LOVD-USHbases with 152 USH2A genotypes defines an extensive mutational spectrum and highlights missense hotspots*. Hum Mutat, 2014. **35**(10): p. 1179-86.
214. Ebermann, I., et al., *An USH2A founder mutation is the major cause of Usher syndrome type 2 in Canadians of French origin and confirms common roots of Quebecois and Acadians*. Eur J Hum Genet, 2009. **17**(1): p. 80-4.
215. Zupan, A., et al., *Clinical and Haplotypic Variability of Slovenian USH2A Patients Homozygous for the c. 11864G>A Nonsense Mutation*. Genes (Basel), 2019. **10**(12).
216. Sandberg, M.A., et al., *Disease course in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa due to the USH2A gene*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008. **49**(12): p. 5532-9.
217. Wang, J., et al., *Dependable and efficient clinical utility of target capture-based deep sequencing in molecular diagnosis of retinitis pigmentosa*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(10): p. 6213-23.
218. Zhao, L., et al., *Next-generation sequencing-based molecular diagnosis of 82 retinitis pigmentosa probands from Northern Ireland*. Hum Genet, 2015. **134**(2): p. 217-30.
219. Bernal, S., et al., *Mutations in USH2A in Spanish patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa: high prevalence and phenotypic variation*. J Med Genet, 2003. **40**(1): p. e8.
220. Reurink, J., et al., *Scrutinizing pathogenicity of the USH2A c.2276 G > T; p.(Cys759Phe) variant*. NPJ Genom Med, 2022. **7**(1): p. 37.
221. Weisschuh, N., et al., *Genetic architecture of inherited retinal degeneration in Germany: A large cohort study from a single diagnostic center over a 9-year period*. Hum Mutat, 2020. **41**(9): p. 1514-1527.
222. Investigators, G.P.P., et al., *100,000 Genomes Pilot on Rare-Disease Diagnosis in Health Care - Preliminary Report*. N Engl J Med, 2021. **385**(20): p. 1868-1880.
223. Reurink, J., et al., *Whole genome sequencing for USH2A-associated disease reveals several pathogenic deep-intronic variants that are amenable to splice correction*. HGG Adv, 2023. **4**(2): p. 100181.
224. Jaijo, T., et al., *MYO7A mutation screening in Usher syndrome type I patients from diverse origins*. J Med Genet, 2007. **44**(3): p. e71.
225. Saatci, A.O., et al., *Diagnostic and Management Strategies of Bietti Crystalline Dystrophy: Current Perspectives*. Clin Ophthalmol, 2023. **17**: p. 953-967.

226. Chan, L.W., et al., *Predicted Protein Structure Variations Indicate the Clinical Presentation of Cyp4v2-Related Bietti Crystalline Dystrophy*. Retina, 2022. **42**(4): p. 797-806.
227. Lai, T.Y., et al., *Genotype phenotype analysis of Bietti's crystalline dystrophy in patients with CYP4V2 mutations*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007. **48**(11): p. 5212-20.
228. Halford, S., et al., *Detailed phenotypic and genotypic characterization of bietti crystalline dystrophy*. Ophthalmology, 2014. **121**(6): p. 1174-84.
229. Lockhart, C.M., et al., *Longitudinal characterisation of function and structure of Bietti crystalline dystrophy: report on a novel homozygous mutation in CYP4V2*. Br J Ophthalmol, 2018. **102**(2): p. 187-194.
230. Xin-Yi, Z., D. Yang-Li, and Z. Ling-Hui, *Review of the phenotypes and genotypes of Bardet-Biedl syndrome from China*. Front Genet, 2023. **14**: p. 1247557.
231. Ece Solmaz, A., et al., *Targeted multi-gene panel testing for the diagnosis of Bardet Biedl syndrome: Identification of nine novel mutations across BBS1, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BBS10 genes*. Eur J Med Genet, 2015. **58**(12): p. 689-94.
232. Hichri, H., et al., *Testing for triallelism: analysis of six BBS genes in a Bardet-Biedl syndrome family cohort*. Eur J Hum Genet, 2005. **13**(5): p. 607-16.
233. Niederlova, V., et al., *Meta-analysis of genotype-phenotype associations in Bardet-Biedl syndrome uncovers differences among causative genes*. Hum Mutat, 2019. **40**(11): p. 2068-2087.
234. Florea, L., L. Caba, and E.V. Gorduza, *Bardet-Biedl Syndrome-Multiple Kaleidoscope Images: Insight into Mechanisms of Genotype-Phenotype Correlations*. Genes (Basel), 2021. **12**(9).



